

"METABOLISIERUNG VON INJIZIERTEN ^3H - α - ECDYSON BEI
DEN LARVEN VON TENEBRIO MOLITOR L. WÄHREND EINES
HÄUTUNGSZYKLUS"

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades

"Doktor der Naturwissenschaft"

Günter Weinheimer

geb. in Niederheimbach

Mainz 1977

1978

"METABOLISIERUNG VON INJIZIERTEM ^3H - α - ECDYSON BEI
DEN LARVEN VON TENEBRIO MOLITOR L. WÄHREND EINES
HAUTUNGSZYKLUS"

D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung des Grades
"D o k t o r d e r N a t u r w i s s e n s c h a f t"

Günter Weinheimer
geb. in Hiederheimbäch

Hainz 1977



Für die Betreuung während der Fertigstellung dieser
Arbeit sei Prof. Dr. F. Romer vielmals gedankt

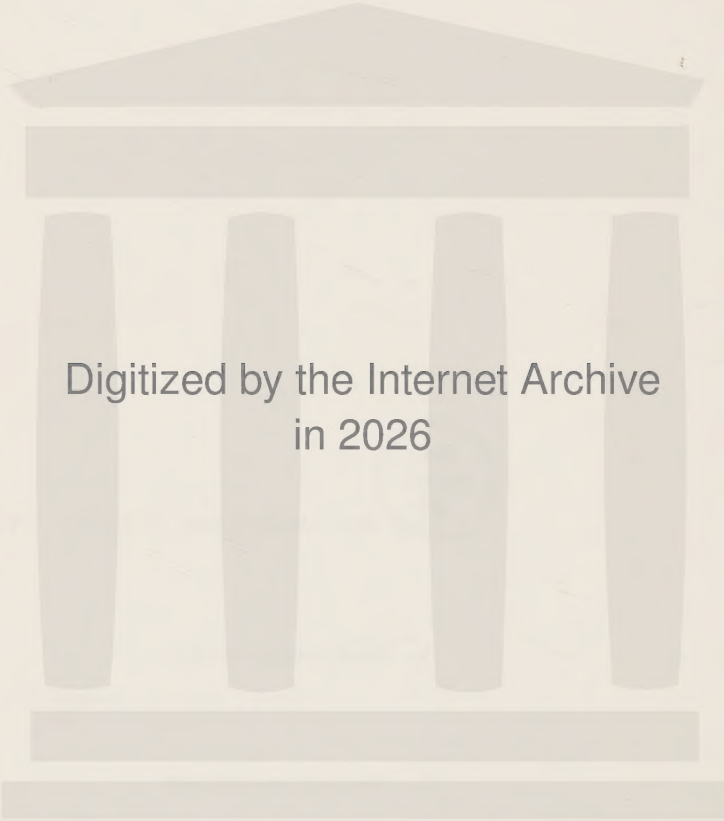
Tag der mündlichen Prüfung: 24. 1. 1978

1. Berichterstatter

Prof. Dr. F. Romer

2. Berichterstatter

Prof. Dr. H. Bisler



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552618_0063

GLIEDERUNG

A. EINLEITUNG	Seite 1
1. Kennzeichnung der Ecdysone und ihr Vorkommen	Seite 1
2. Ort der Synthese des Ecdysons	Seite 2
3. Titer des Ecdysons	Seite 3
4. Inaktivierungsmechanismen des Ecdysons	Seite 4
a) Hydroxylierung	Seite 4
b) Dehydrierung an der C-3 Position	Seite 4
c) Abspaltung der Seitenkette	Seite 5
d) Konjugation	Seite 5
e) Exkretion	Seite 5
5. Ziel der Arbeit	Seite 6
B. MATERIAL UND METHODEN	Seite 7
1. Tiere	Seite 7
a) Larven	Seite 7
b) Puppen	Seite 7
c) Imagines	Seite 8
2. Chemikalien	Seite 8
3. In vivo Untersuchungen	Seite 9
a) Bestimmung der Metaboliten des α -Ecdysons durch die Larven	Seite 9
b) Bestimmung der Metaboliten des α -Ecdysons durch Puppen und Imagines	Seite 9
c) Bestimmung des Ecdysons und seiner Metaboliten innerhalb des Körpers der Larven	Seite 9
d) Verfüttern des Ecdysons	Seite 9
4. In vitro Untersuchungen	Seite 10
5. Extraktion und Identifikation der Metaboliten	Seite 10
6. Messung der Radioaktivität	Seite 11

C. RESULTS

1. Metabolisierung des β - α - Ecdysons durch die Larven	Seite 12
a) Stoffwechselwege des Ecdysons	Seite 12
b) Konzentration von α - Ecdyson während eines Häutungs- zyklus	Seite 15
c) Konzentration von β - Ecdyson während eines Häutungs- zyklus	Seite 18
d) Konzentration des Startzonematerial während eines Häutungszyklus	Seite 20
e) Exkretion	Seite 22
2. Bestimmung der Metaboliten des Ecdysons in den Puppen von Tenebrio	Seite 25
a) Stoffwechsel des Ecdysons	Seite 26
b) α - Ecdyson	Seite 26
c) β - Ecdyson und Startzonematerial	Seite 26
3. Bestimmung der Metaboliten in den Imagines	Seite 29
4. Metabolisierung des α - Ecdysons durch verschiedene Organe von Tenebriolarven unter in vitro Bedingungen	Seite 30
a) Untersuchte Organe und von ihnen gebildete Metaboli- ten	Seite 30
b) Untersuchung der Stoffwechselaktivität des Fett- körpers	Seite 31
I. Umsatzrate	Seite 31
II. Umsatzgeschwindigkeit	Seite 31
III. Abhängigkeit des Umsatzes von der Gewebemenge	Seite 32
c) Metabolismus des α - Ecdysons in den Inkubaten von Fettkörper, Oenocyten, Darm und Hämiphaigefäßen während eines Häutungszyklus	Seite 32

I. Ansatz	Seite 32
II. β -Ecdyson	Seite 39
III. Startmonenserial	Seite 47
5. Bestimmung der Verteilung des Ecdysons und seiner Metaboliten in den Larven von Tenebrio nach einer Injektion von α -Ecdyson in Abhängigkeit vom Alter und von der Inkubationszeit	Seite 51
a) Verteilung der Radioaktivität in Darm, Fettkörper, Hämolymphe und im Restkörper	Seite 51
b) Vergleich der Radiochromatogramme	Seite 56
I. Hämolymphe	Seite 56
II. Fettkörper	Seite 56
III. Restkörper	Seite 58
IV. Darm	Seite 58
6. Verfütterung von β - α -Ecdyson an die Larven von Tenebrio	Seite 60
a) Metabolisierung	Seite 60
b) Aufnahme der markierten Substanzen in den Körper	Seite 60
9. DISPOSITION	Seite 62
1. Metabolisierung des Ecdysons durch die Larven	Seite 62
2. Metabolisierung des Ecdysons durch die Puppen	Seite 64
3. Metabolisierung des Ecdysons durch die Imagines	Seite 65
4. Metabolisierung des α -Ecdysons durch verschiedene Organe von Tenebriolarven unter in vitro Bedingungen	Seite 66
5. Bestimmung der Verteilung des Ecdysons und seiner Metaboliten in den Larven von Tenebrio nach einer Injektion von α -Ecdyson	Seite 68

6. Verfüttern von ^3H - α -Medyson an die Larven

Seite 72

E. ZUSAMMENFASSUNG

Seite 74

F. LITERATURVERZEICHNIS

Seite 79

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1	Seite 13	Abbildung 19	Seite 42
Abbildung 2	Seite 16	Abbildung 20	Seite 43
Abbildung 3	Seite 16	Abbildung 21	Seite 44
Abbildung 4	Seite 17	Abbildung 22	Seite 45
Abbildung 5	Seite 19	Abbildung 23	Seite 46
Abbildung 6	Seite 19	Abbildung 24	Seite 48
Abbildung 7	Seite 21	Abbildung 25	Seite 49
Abbildung 8	Seite 23	Abbildung 26	Seite 50
Abbildung 9	Seite 23	Abbildung 27	Seite 50
Abbildung 10	Seite 24	Abbildung 28	Seite 51
Abbildung 11	Seite 24	Abbildung 29	Seite 53
Abbildung 12	Seite 25	Abbildung 30	Seite 53
Abbildung 13	Seite 28	Abbildung 31	Seite 57
Abbildung 14	Seite 33	Abbildung 32	Seite 57
Abbildung 15	Seite 35	Abbildung 33	Seite 59
Abbildung 16	Seite 36	Abbildung 34	Seite 59
Abbildung 17	Seite 37	Abbildung 35	Seite 61
Abbildung 18	Seite 38	Abbildung 36	Seite 61

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1	Seite 7
Tabelle 2	Seite 14
Tabelle 3	Seite 5
Tabelle 4	Seite 27
Tabelle 5	Seite 29
Tabelle 6	Seite 31
Tabelle 7	Seite 40, 41
Tabelle 8	Seite 54, 55

A. EINLEITUNG

1. Kennzeichnung und Vorkommen der Ecdysone

Unter dem Namen Ecdyson werden Hormone zusammengefaßt, die bei der Regulation von Häutung und Metamorphose der Insekten eine wichtige Rolle spielen (Karlson 1966; Horn 1971; Gilbert u. King 1973). Ecdyson konnte zum erstenmal aus Puppen des Seidenspinners *Bombyx mori* in kristalliner Form isoliert werden (Eutenandt, Karlson 1954). Seine Struktur- aufklärung erfolgte durch Huber und Hoppe (1955). Sie ließ sich auch durch eine erfolgreiche Synthese bestätigen. Danach ist es ein Steroidhormon mit dem Gerüst des Cholesterins (Kerb et al. 1966; Siddal et al. 1966). Inzwischen sind mehrere nahe verwandte Steroide isoliert und identifiziert worden:

- A- Ecdyson = Crustecdysone = Ecdysterone = 20- Hydroxyecdysone (Hocks et al. 1966; Hoffmeister und Grützmacher 1966; Horn et al. 1966)
- 26- Hydroxyecdysone (Kaplanis et al. 1972)
- 20,26- Dihydroxyecdysone = 26- Hydroxy- β -ecdysone (Thompson et al. 1967)
- 2- Deoxyecdysterone (Galbraith et al. 1968; Chong et al. 1970)
- 3- Dehydroecdysone (Karlson et al. 1972)
- 3- Dehydroecdysterone (Karlson et al. 1972)
- 3- Epiecdysone (Nigg 1975)
- 3- Epiecdysterone (Thompson 1974)

Das Vorkommen der Ecdysone ist nicht allein auf die Insekten beschränkt, sondern sie sind sowohl bei einigen anderen Arthropoden, insbesondere bei den dekapoden Crustaceen (*Jasus*: Horn et al. 1966; *Callinectes*: Faux et al. 1969)

und bei einigen Protostomiern (Nematoden: Rajulu et al. 1972; Mollusken: Takemoto et al. 1967, Muftic 1969; Polychaeten: King 1973) nachgewiesen worden. In diesem Zusammenhang ist es von Interesse zu vermerken, daß die Ecdysone auch im Pflanzenreich weit verbreitet sind; insbesondere bei Pteridophyten, Gymnospermen, Angiospermen (Imai et al. 1969). Sie wurden kurioserweise nur in mehrjährigen Kräutern oder in Hölzern angetroffen. Inzwischen sind über 40 Phytoecdysone (Horn 1971) beschrieben und in ihrer Struktur aufgeklärt worden. Die meisten von ihnen sind bei den Insekten im Biotest aktiv. Die Ecdysone können in den Pflanzen hohe Konzentrationen erreichen. Robbins et al. (1971) berichten von einer über 1000-fach höheren Konzentration als sie bei Insekten jemals angetroffen wurde. Die Frage, warum Pflanzen Ecdysone synthetisieren, ist bisher noch nicht geklärt.

2. Ort der Synthese des Ecdysons

Die Bedeutung der Prothoraxdrüsen für die Entwicklung der Insekten wurde zuerst von Fukuda (1940, 1944) erkannt. In einer Reihe von Ligaturexperimenten an den Larven von *Bombyx mori* fand er, daß nur die Körperregion, die die Prothoraxdrüse enthielt, puparisieren konnte. Die Bereiche ohne diese Drüse konnten nur dann puparisieren, wenn aktive Prothoraxdrüsen implantiert wurden. Die Wirkung der Prothoraxdrüsen sollte seiner Ansicht nach in der Sekretion eines aktiven Prinzips (Hormon) an das Blut bestehen. Diese Vorstellung war allgemein akzeptiert und blieb lange Zeit unangefochten. In der Tat konnten jüngst mehrere Autoren α -Ecdyson als Sekretionsprodukt der Prothoraxdrüsen in einigen Larven nachweisen: *Bombyx mori* (Chino et al. 1974), *Manduca sexta* (King et al. 1975), *Leucophaea maderae* (Borst et Engelmann 1974; King et al. 1974), *Locusta migratoria* (Hoffmann et al. 1975). Auch die Ecdysone synthese von α -Ecdyson durch die Prothoraxdrüsen *in vitro*

aus Cholesterin deuten in diese Richtung (Romer et al. 1974). Andererseits zeigen einige Experimente, daß Häutungen auch nach der Exstirpation der Prothoraxdrüsen noch vorkommen, und daß isolierte Abdomina Ecdyson aus Cholesterin zu synthetisieren vermögen. (Piepho 1948, Chadwick 1956, Gersch 1976; Gersch und Stürzebecher 1971, Hsiao et Hsiao 1975, Gersch und Eibisch 1976). Auch das Vorkommen von Ecdyson bei Imagines, bei denen ja die Prothoraxdrüsen degeneriert sind, (Lagueux et al. 1976, Studinger und Willig, 1975, Romer 1977) machen es erforderlich, von der klassischen Vorstellung über die Bildung des Ecdysons insofern abzurücken, als noch zusätzliche Orte der Ecdysonsynthese gefordert werden, z. B.: Oenocyten (Romer et al. 1974), periphere Organe (King 1972), Ovar (Hagedorn et al. 1975, Lagueux et al. 1977)

3. Titer des Ecdysons

Der Ecdysontiter der Insekten kann innerhalb eines Häutungszyklus erhebliche Unterschiede zeigen (Burdette 1962, Shroya und Karlson 1965, Hanoaka und Onishi 1974, Kimura 1974, Delbecq 1976, Hsiao et al. 1976, Lack und Happ 1976). Delbecq bestimmte den Ecdysontiter von *Tenebrio molitor* für das pharate Puppenstadium durch Massenfragmentographie. Zu jedem Zeitpunkt des Zyklus konnte er Häutungshormone nachweisen. In der ersten Hälfte war der Titer bis auf ein kleines Maximum am Anfang (Augenstadium I) minimal. Größere Mengen fand er in der zweiten Hälfte (Augenstadium 7 - 12). Das dominierende Hormon bei *Tenebrio* ist das β -Ecdyson. Für die Larven des 6. und 7. Stadiums konnten Lack und Happ (1976) mit dem Muscatest nur einen Peak, der mit dem von Delbecq gefundenen Hauptpeak übereinstimmen dürfte, feststellen.

4. Inaktivierungsmechanismen des Ecdysons

Als Möglichkeiten für die Einstellung und die Regulation des Hormonniveaus werden Unterschiede in der Wirksamkeit

eines inaktivierenden Enzymsystems oder in der Syntheserate oder eine unterschiedliche Exkretionsrate diskutiert. (Karlson und Bode 1969) An Inaktivierungsmechanismen sind folgende Umsetzungen des Ecdysons bisher beschrieben worden:

a) Die weitere Hydroxylierung des α - Ecdysons. Diesem Vorschlag von Thompson et al. (1967) liegt die Beobachtung zugrunde, daß 20, 26 Dihydroxyecdysone eine verminderte biologische Aktivität aufweist (etwa nur noch 1/10 der Aktivität des β - Ecdysons). Dieser Inaktivierungsmechanismus ließ sich auch bei *Manduca* (King 1972) nachweisen und wird auch bei einigen anderen bisher untersuchten Insekten vermutet (*Antheraea polyphemus* : Cherbas und Cherbas 1970; *Bombyx mori*:Moriyama et al. 1970; *Calliphora*: Karlson et al. 1973; *Choristoneura fumiferana* : Lagueux et al. 1976 *Gryllus bimaculatus* : Wildmann und Romer 1977)

b) Eine andere Möglichkeit, Ecdysone in seiner biologischen Wirksamkeit zu vermindern, besteht in der Dehydrierung des Steroidkerns an der C- 3 Position. Das dadurch gebildete 3- Dehydroecdysone, bzw 3- Dehydroecdysterone besitzt ebenfalls nur noch 1/10 der Aktivität des Ecdysons im Biotest. Beide Verbindungen werden in vitro als Produkte der enzymatischen Tätigkeit der aus hellbraunen Calliphorapuppen isolierten Ecdysoneoxydase gebildet (Karlson 1970, Karlson et al. 1972). In vivo konnten sie bei *Calliphora* und bei *Locusta* nachgewiesen werden. (Karlson et al. 1973, Koolmann et al. 1973, Hoffmann et al. 1974 a, b.) Ihre chromatographischen Eigenschaften legen ihre Identität mit schon früher bei anderen Autoren beschriebenen, aber von ihnen nicht bestimmten, apolaren Metaboliten nahe: Cherbas et Cherbas: Metabolit IV, 1970; Moriyama et al.: Verbindung D, 1970; Gorell et al.: unbenannte Verbindung, 1972; Clever et al.: Verbindung -E_X, 1973). Ob sich die Bedeutung dieser Verbindungen allein auf die Inaktivierung beschränkt, bleibt allerdings noch zu erklären. Bemerkenswert ist auch die offensichtliche Stadienabhängigkeit im Auftreten dieser apolaren Verbindungen, die bei den Larven von *Locusta* festgestellt wurde (Hoffmann et al. 1974 b). Während die Dehydrierung der Ecdysone an den Tagen mit niedrigem endogenem Titer eine

größere Bedeutung hat, ist sie an den Tagen mit hohem Titer kaum nachweisbar.

c) Die Inaktivierung des Ecdysons durch eine Spaltung der Seitenkette zwischen C-20 und C-22 führt zu einem völlig inaktiven Molekül, wurde aber bisher nur selten nachgewiesen. Galbraith et al. (1969), die diesen Schritt vorschlugen, konnten bei *Calliphora stygia* das Derivat der Seitenkette, 4-Hydroxy-4-methyl- Pentansäure, nur in sehr geringem Umfang isolieren. Einen weiteren Hinweis für diesen Mechanismus geben Hikino et al. (1975) für *Bombyx mori*. Allerdings scheint die Spaltung der Seitenkette auch hier nur ein Nebenweg des Ecdysonmetabolismus zu sein.

d) Durch die Konjugation des Ecdysons und seiner oben beschriebenen Metaboliten mit Glucose, Glucuronsäure oder mit Schwefelsäure ist das Hormon in eine völlig inaktive Form überführt. Die Zusammensetzung der Konjugatfraktion scheint sowohl von der Art als auch vom Lebensalter der Insekten abhängig zu sein (Vergl. *Manduca*: King 1972, *Calliphora*: Young 1976, *Locusta*: Hoffmann et al. 1974). Die Konjugate werden als Endprodukte der Inaktivierung angesehen. Dafür sprechen die biologische Unwirksamkeit, ihre kontinuierliche Zunahme in den Extrakten ganzer Tiere mit zunehmender Applikationsdauer und das Vorkommen in den Faeces. Die Konjugatfraktion, aufgrund ihres chromatographischen Verhaltens auch häufig Startzonenzmaterial genannt, ist bisher bei allen untersuchten Insekten gefunden worden. Sofern eine enzymatische Spaltung dieses Materials unternommen wurde, konnte stets ein größerer Anteil nicht gespalten werden (Hoffmann et al. 1974, Young 1976). Welcher Inaktivierungsmechanismus dieser nicht spaltbaren Verbindung zu Grunde liegt, ist bisher noch nicht bekannt.

e) Die biologische Aktivität der Extrakte aus Exkrementen von Insektenlarven (Hoffmeister et al. 1965) zeigt eine

weitere Möglichkeit auf, den Hormontiter zu regulieren. Sie läßt sich auf den Gehalt von entweder unverändert gebliebenen α -Ecdyson, β -Ecdyson und/ oder auf die Anwesenheit der oben beschriebenen Hydroxylierungs- und Dehydroxylierungsprodukte des Ecdysons zurückführen. Eine Beziehung der Exkretionsrate zum Entwicklungsstadium beschrieben Hoffmann et al. (1974) bei *Locusta migratoria*: Bei Larven mit hohem endogenem Titer ist in den Faeces fast keine Aktivität nachweisbar, während die Exkretion bei geringem Titer eine größere Rolle spielt. Nach Ansicht von Hoffmann et al. (1974) scheinen die Prothoraxdrüsen diesen Mechanismus zu kontrollieren.

5. Ziel der Arbeit

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Metabolismus von α -Ecdyson bei den Larven von *Tenebrio molitor* während eines Häutungszyklus. Es sollen folgende Fragen beantwortet werden:

Welche Möglichkeiten der Inaktivierung sind bei den Larven verwirklicht? Gibt es Beziehungen im Auftreten einzelner Metaboliten zum endogenen Titer?

Gibt es Unterschiede bei der Inaktivierung des α -Ecdyson zwischen Larven, Puppen und Imagines?

Wird verfüttertes α -Ecdyson von den Larven metabolisiert? Gelangt das Hormon oder einer seiner Metaboliten in den Körper?

Welche Organe vermögen α -Ecdyson in vitro zu metabolisieren? Welche Metaboliten werden gebildet? Zeigen Organe, die von verschiedenen alten Tieren abstammen, unter in vitro Bedingungen unterschiedliche Aktivitätsphasen? Besteht eine Übereinstimmung im Auftreten bestimmter Metaboliten zwischen in vivo und in vitro Bedingungen während eines Häutungszyklus?

Wie wird das injizierte ^3H - α -Ecdyson innerhalb des

Körpers der Larven verteilt? Gibt es Unterschiede im Metabolitenmuster einzelner Kompartimente?

B. MATERIAL UND METHODEN

1. Tiere

a) Larven

Die Larven von *Tenebrio molitor* wurden in einer Massenzucht gehalten. Als Nahrung dienten Haferflocken, denen zwei bis dreimal in der Woche Karottenstückchen oder Bananenschalen zugegeben wurden. Täglich wurden frisch gehäutete Exemplare mit einem Häutungsgewicht von 40 bis 60 mg isoliert und im Wärmeschrank bei 30°C gehalten. Unter diesen Bedingungen betrug der Häutungszyklus acht Tage. Diese Datierung folgte einem Vorschlag von Komer (1975), der eine Beziehung zwischen Häutungsgewicht und Dauer der Larvenstadien nachweisen konnte.

b) Puppen

Täglich wurden frisch gehäutete Puppen isoliert und bei Zimmertemperatur (25- 30°C) bis zum Erreichen des gewünschten Stadiums gehalten. Die Datierung erfolgte nach Delachambe(1973):

Physiologisches Alter	äußere Kennzeichen
1	Augenlinie noch nicht sichtbar
2	Die Augenlinie ist sichtbar geworden. Die Ommatiden haben sie aber noch nicht erreicht
3	Die Ommatiden haben die Augenlinie erreicht
4	Die Ommatiden überschreiten die Augenlinie, das Auge wird gelappt. Die vorderen Facetten sind schwach braun
5	Das Auge ist deutlich lappenförmig, die Facetten sind völlig braun. Das distale Ende der Mandibeln beginnt sich zu bräunen
6	Die Klauen und das distale Ende der Mandibeln sind völlig braun. Die neue Cuticula der Klauen beginnt sich zu bräunen

7	Die Augen sind völlig braun: Die einzelnen Facetten sind kaum zu unterscheiden
8	Die Mandibeln sind völlig braun. Die Facetten sind nicht mehr zu unterscheiden. Eine hörnchenförmige Sklerotisierung wird auf dem vorletzten abdominalen Sternit sichtbar
9	Der Kopf und das „Hörnchen“ sind dunkelbraun

Tabelle 1 : Datierung der Puppen nach Delachambre (1973).
Bei Zimmertemperatur (25 - 30°C) währte das Puppenstadium 6 Tage. Die einzelnen Stadien sind von gleicher Dauer, ungefähr 20 Stunden.

c) Imagines

Die Imagines erhielten die gleiche Fahrung wie die Larven. Die nach ihrer Häutung isolierten Tiere wurden, Männchen und Weibchen zusammen, bei Zimmertemperatur gehalten. Ihr Alter wurde durch die Tage nach der Häutung angegeben.

2. Chemikalien

23, 24-³H- α - Ecdyson war ein Geschenk von Dr Berger und Dr P.E. Schulze von der Schering AG Berlin. Die spezifische Aktivität betrug 6,3 mCi/ μ g. Seine radiochemische Reinheit war größer als 95%. Erst unmittelbar vor einer Versuchsreihe wurde das benzolhaltige Lösungsmittel im Wasserbad bei 40°C durch einen trockenen N₂ Strom entfernt. Anschließend wurde das Ecdyson mit 10% igem Ethanol aufgenommen und auf eine Endkonzentration von 1 μ Ci/ μ l, entsprechend 16 ng/ μ l, gebracht. Unmarkiertes α - Ecdyson wurde von Fluka (Ulm), unmarkiertes β - Ecdyson von Rhoto Pharmaceuticals, Csaka (Japan), bezogen, β - Glucuronidase und β - Glucosidase von Serva (Heidelberg), α - Glucosidase und Arylsulfatase von Boeringer (Mannheim). Alle nicht gesondert aufgeführten Chemikalien stammten von Merck (Darmstadt).

3. In vivo Untersuchungen

a) Bestimmung der Metaboliten des α - Ecdysons durch die Larven
Für jeden Versuch wurden jeweils 5 Tiere mit der angesetzten Ecdysonlösung injiziert. Zur Erleichterung der Injektion waren die Tiere leicht unterkühlt. Bis zur Extraktion wurden die injizierten Tiere bei 30°C aufbewahrt. Die 8 und 16 Stunden zu inkubierenden Larven wurden auch weiterhin gefüttert. Nach definierten Zeitintervallen wurden die Larven in 60 % igem Methanol abgetötet. Der Kot wurde gesammelt und ebenfalls in Methanol gegeben.

b) Bestimmung der Metaboliten des α - Ecdysons durch Puppen und Imagines.

Für jeden Meßpunkt wurden jeweils 3 Tiere wie oben beschrieben injiziert. Die Konzentration der Ecdysonlösung war aber eine andere. Sie enthielt in 5 μ l etwa 200000 cpm.

c) Bestimmung des Ecdysons und seiner Metaboliten innerhalb des Körpers der Larven.

Diese Versuche wurden an 2 Tieren durchgeführt. Die Injektionslösung enthielt etwa 600000 cpm in 5 μ l. Nach definierten Zeitintervallen wurden sie in Insektenringer präpariert: Die nach dem Abschneiden der Extremitäten heraustretende Hämolymphe wurde aufgefangen und ohne weitere Aufarbeitung direkt chromatographiert. Der Darm, Fettkörper, Malpighigefäße und der verbleibende " Restkörper " wurden in 60 % iges Methanol gegeben.

d) Verfüttern des Ecdysons

Eine Lösung von ^3H - α - Ecdyson wurde in eine geringe Menge zerriebener Haferflocken eingetrocknet. Die so präparierten Haferflocken wurden an 4 Larven, die zuvor 24 Stunden gehungert hatten, verfüttert. Als nach etwa 24 Stunden das Futter größtenteils verbraucht war, wurden die Larven präpariert.

4. In vitro Untersuchungen

Die Larven wurden in einem Kulturmedium präpariert, dessen pH 6,9 und dessen Osmolarität 520 m Osmol/kg betrug. Das Medium wurde nach Angaben von Homer et al. (1974) hergestellt.

Es enthielt in 100 ml:

100 mg Na	$H_2 PO_4$
100 mg Mg	$Cl_2 \cdot 6H_2O$
550 mg Mg	$SO_4 \cdot 7H_2O$
550 mg	KCl
60 mg Ca	$Cl_2 \cdot H_2O$
160 mg	Glucose

Mit Sucrose (etwa 11 g) wurde die Osmolarität eingestellt. Nach wiederholtem sorgfältigen Spülen wurden die Gewebe in ein Schnappdeckelglaschen, das 0,5 ml dieses Mediums enthielt, übertragen. Es wurde markiertes α -Ecdyson in einer Konzentration von etwa 200000 cpm zugegeben. Um die Osmolarität konstant zu halten und eine ausreichende Sauerstoffversorgung zu gewährleisten, wurden die Gläschen in eine O_2 und H_2O gesättigte Atmosphäre eines geschlossenen Systems gestellt. Unter leichtem Schütteln (Taumler der Firma Labotec) wurden die Gewebe 16 Stunden bei $30^\circ C$ inkubiert. Eine Ergänzung des Mediums mit einem Hämolymphezusatz ergab keine Verbesserung der Ausbeute. Zur Beendigung der Inkubation wurde dem Versuchsansatz 0,5 ml absolutes Methanol zugegeben.

5. Extraktion und Identifikation der Metaboliten

Die Extraktion erfolgte durch Homogenisieren der Tiere, bzw. der Gewebe in 60 % igem Methanol. Die Extraktionsausbeute betrug zwischen 90 und 96 %. Die vereinigten Methanolüberstände wurden unter Vacuum bis zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wurde in wenig 60 % igem Methanol aufgelöst.

und chromatographiert (DC- Plastikfolien von 0,2 mm Schichtdicke, Fa. Merck; Laufstrecke 15 cm, Laufmittel Dichlormethan: Methanol im Verhältnis 80 : 20). Auf eine weitere Reinigung, einer Verteilung zwischen Butanol und Wasser, mußte verzichtet werden, da hierbei größere Verluste an Aktivität auftraten und das stark polare Startzonenmaterial bevorzugt in der Wasserphase verblieb.

Kaltes α - und β - Ecdyson wurden als Referenzsubstanzen mit den Extrakten mitchromatographiert. Zur Lokalisation der Dehydroprodukte wurde in mehreren Versuchen radioaktives 3- Dehydro- α - und β - ecdyson in gesonderten Spuren mitchromatographiert. Die Herstellung dieser Verbindungen erfolgte durch die Isolierung der entsprechenden Enzyme nach Karlson und Koolman 1972 und die anschließende Reaktion der Enzyme mit beiden Ecdysonen.

Hydrolyse: Das Startzonenmaterial, Peak I, wurde getrennt eluiert und ein Aliquot bestimmt. Der Rest wurde in fünf Portionen aufgeteilt. Eine davon wurde zur Kontrolle unbehandelt erneut chromatographiert. Die vier anderen wurden über Nacht mit den einzelnen Enzymen inkubiert. Das Enzymelweiß wurde durch Zugabe von absolutem Methanol ausgefällt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde eingengt und chromatographiert.

6. Messung der Radioaktivität

Das entwickelte Chromatogramm wurde im Bereich der Ecdysone in 0,25 cm, in den anderen Bereichen in 0,5 cm Streifen aufgeteilt und direkt in die Zählfläschchen geschnitten. Es wurden 10 ml eines Szintillatormischs, das in einem Liter 5,5 g Permablend III (Fa. Packard) enthielt, zugefügt. Zur Verbesserung des Elutionsvermögens wurden noch 1,5 ml Methanol zu dem Cocktail gegeben. Die Proben wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und anschließend in einem Intertechnique Flüssigkeitsszintillationszähler gezählt. Die Quenchkorrektur erfolgte über das externe Standardverhältnis. Die Ausbeute betrug etwa 35 %.

Wasserhaltige Proben wurden in Unisolve gemessen.

C. RESULTATE

1. Metabolisierung des ^3H - α - Ecdysons durch die Larven

a) Stoffwechselwege des Ecdysons

Das Stoffwechselschicksal des injizierten α - Ecdysons wurde während eines ganzen Häutungszyklus untersucht. Dabei waren die Anzahl und die Lage der Abbauprodukte stets identisch. Ein typisches Chromatogramm zeigt Abb. 1. Insgesamt sind acht Peaks zu verzeichnen, die der Reihe nach durchnummeriert wurden. Vier von ihnen können näher gekennzeichnet werden. Peak VI als α - Ecdyson, Peak V als β - Ecdyson, Peak VIII als 3- Dehydroecdyson und Peak VII als 3- Dehydroecdysteron. Die Lage dieser Peaks konnte sichtbar gemacht werden nach dem HPLC-Chromatographieren von authentischem α - und β - Ecdyson (Karlson et al. 1972) durch Betrachten im UV- Licht bei 254 nm.

Über die Natur der Verbindungen II-IV ist wenig bekannt. Möglicherweise handelt es sich um Polyhydroxyprodukte des α - Ecdysons, wie zum Beispiel 26- Hydroxyecdyson (Thompson et al. 1967, 1972). Die Verbindungen des Peaks I sind als Endprodukte der Inaktivierung anzusehen. Sie sind die einzigen Metaboliten, die sich in dem betrachteten Zeitraum anhäuferten. Weiterhin findet sich dieses Material bevorzugt in den Faeces wieder. Peak I läßt sich zu 56 % enzymatisch spalten (Vergl. Tab. 2). Die besten Ergebnisse konnten hierbei mit der β - Glucuronidase, mit einem Umsatz von 27 %, und mit Arylsulfatase, Umsatz 22 %, erzielt werden. α - Glucosidase ergab ein negatives Ergebnis. Bei der Hydrolyse wurden im Wesentlichen Verbindung II und III neben wenig α - Ecdyson und 3- Dehydroecdysteron freigesetzt. Demnach besteht der Peak I aus Konjugaten der Glucuronsäure, der Schwefelsäure und der Glucose mit den Verbindungen II und III und mit 3- Dehydroecdysteron und α - Ecdyson.

Legende zu Abb. 1

Radiochromatogramm eines Extraktes von Larven von *Tenebrio molitor* nach der Injektion von ^3H - α -Ecdyson. Vom Startpunkt ausgehend sind die Peaks der radioaktiven Metaboliten in Laufrichtung des Chromatogramms von links nach rechts durchnummeriert. Die Ordinate gibt den Prozentsatz der in den Larven wiedergefundenen Aktivität an.

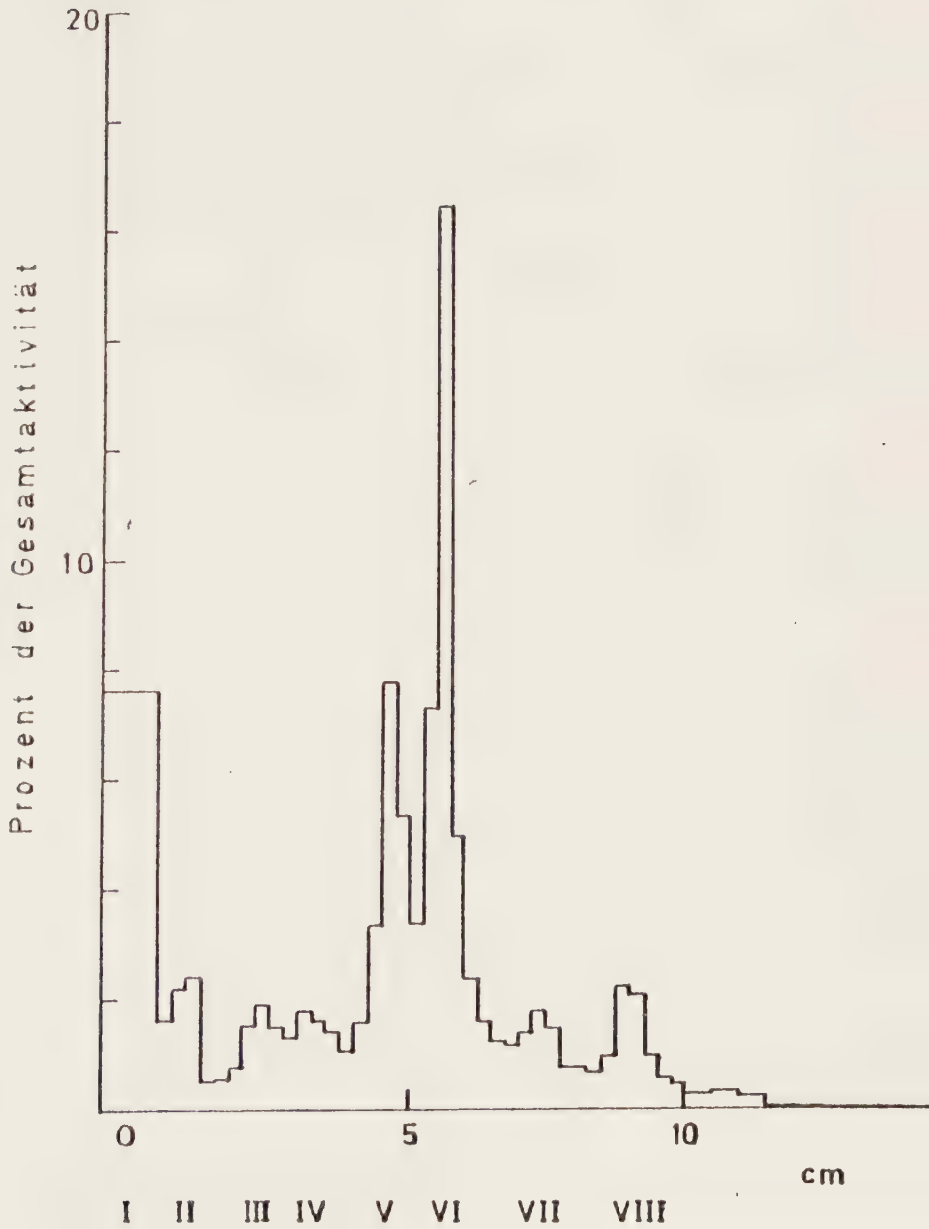


Abbildung 1

Metabolit	Kontrolle = (unbehandelt)	Enzyme			
		α - Glucosidase	β -Glucuronidase	Arylsulfatase	β - Glucosidase
Peak I	87	90	63	66	61
Metabolit II	2	2	24	1	3
Metabolit III	2	1	2	28	1
β - Ecdyson	3	1	2	1	2
α - Ecdyson	3	3	4	2	7
β - Denydroecdys- teron	1	1	2	1	3
Umsatz, in % (Startzone der Kontrolle = 100)	-	-	27	22	7

Tabelle 2 :Hydrolyse des Startzonematerials durch verschiedene Enzyme. Die Werte geben den Anteil eines Metaboliten an der Gesamtaktivität des Radiochromatogramms in % an. In der untersten Reihe ist die durch die Enzyme

b) Konzentration von α - Ecdyson während eines Häutungszyklus.

In den Extrakten der Tenebriolarven nimmt der Anteil von ^3H - α - Ecdyson rasch ab (Abb. 2). Die nach einer Stunde wieder-gefundenen Konzentrationen sind in der Abbildung 3 dargestellt für die Larven während eines Häutungszyklus. Am 0. und am 2. Tag sind die höchsten Werte gefunden worden: über die Hälfte des injizierten Hormons war in den Extrakten noch als α - Ecdyson nachweisbar. Vom 2. bis zum 5. Tag erfolgte eine stete Abnahme des α - Ecdysonanteils. So sind im Minimum, am 5. Tag, nur noch 25 % des injizierten Hormons unverändert verblieben. Gegen Ende des Häutungszyklus steigen die α - Ecdysonkonzentrationen wieder an. Ein zweites Minimum findet sich am 1. Tag (etwa 35 % Ecdyson).

Dieser beschriebene Verlauf läßt eine deutliche Beziehung zum endogenen Titer erkennen (Delbecque 1976, Vergl. auch Einleitung): An den Tagen mit niedrigem endogenen Titer sind 1 Stunde nach der Injektion von ^3H - α - Ecdyson in den Extrakten die Konzentrationen dieses Hormons am höchsten und an den Tagen mit hohem Titer am niedrigsten. Betrachtet man die gefundenen α - Ecdysonkonzentrationen eines Stadiums in Abhängigkeit von der Zeit (Abb. 2 und 4), so fällt zunächst das hohe α - Ecdysonniveau in den länger inkubierten Tieren auf. Die gefundenen Werte sind höher als die Werte des β - Ecdysons (Abb. 4). Dies ist insofern unerwartet, da nach Delbecque (1976) β - Ecdyson für die Larven von Tenebrio das dominierende Hormon darstellt. Dominiert aber β - Ecdyson, so wurden bisher eher die umgekehrten Verhältnisse angetroffen, also auch nach länger Inkubation, ein hohes β - Ecdysonniveau. Delbecque untersuchte allerdings das letzte Larvenstadium, während hier jüngere Stadien verwendet wurden. Möglicherweise sind also diese Versuchsergebnisse mit dem unterschiedlichen Alter der Tiere und einem daher denkbaren verschiedenen α/β - Ecdysonverhältnis zu erklären.

Bei längerer Inkubationszeit ist ferner ein Anstieg der α - Ecdysonkonzentration festzustellen. Vergleicht man in der

Abb. 2 Metabolisierung des α -Ecdysons ausgedrückt durch das zu verschiedenen Zeitpunkten noch vorhandene α -Ecdyson, bezogen auf die in den Extrakten wiedergefundene Aktivität. Kennzeichnung der Tage $\blacktriangle$ —Tag 1; $\bullet$ —Tag 2; $\circ$ —Tag 5

Abb. 3 Wiedergefundene Menge an α -Ecdyson während eines Häutungszyklus. Die Extrakte wurden eine Stunde nach der Injektion hergestellt.

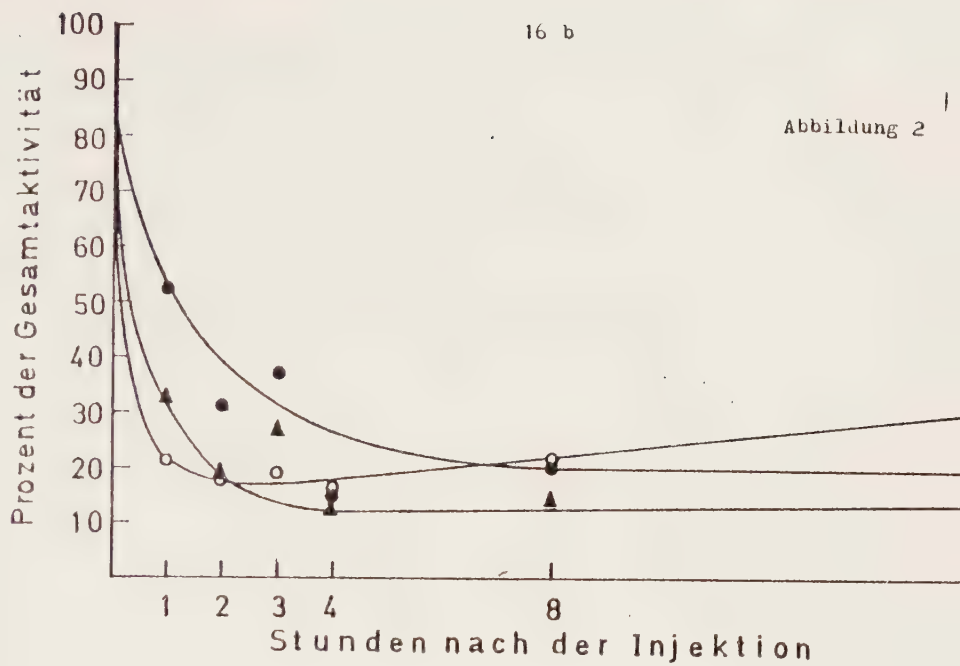


Abb. 4 den Verlauf der Kurven von α -Ecdyson und des Startzonenmaterials miteinander, so ist in dem Zeitraum zwischen 4 und 16 Stunden ein spiegelbildliches Verhalten beider Kurven zueinander zu erkennen. Als mögliche Erklärung wäre eine Regeneration von α -Ecdyson aus der Konjugatfraktion denkbar. Jedenfalls ist von den Wirbeltieren her eine mögliche Hydrolyse von Steroidsulfaten bekannt (Träger 1977). Die Konjugatfraktion enthält, wie aus der Tabelle 2 ersichtlich, hohe Beträge von Estern der Schwefelsäure mit α -Ecdyson und seiner Metaboliten.

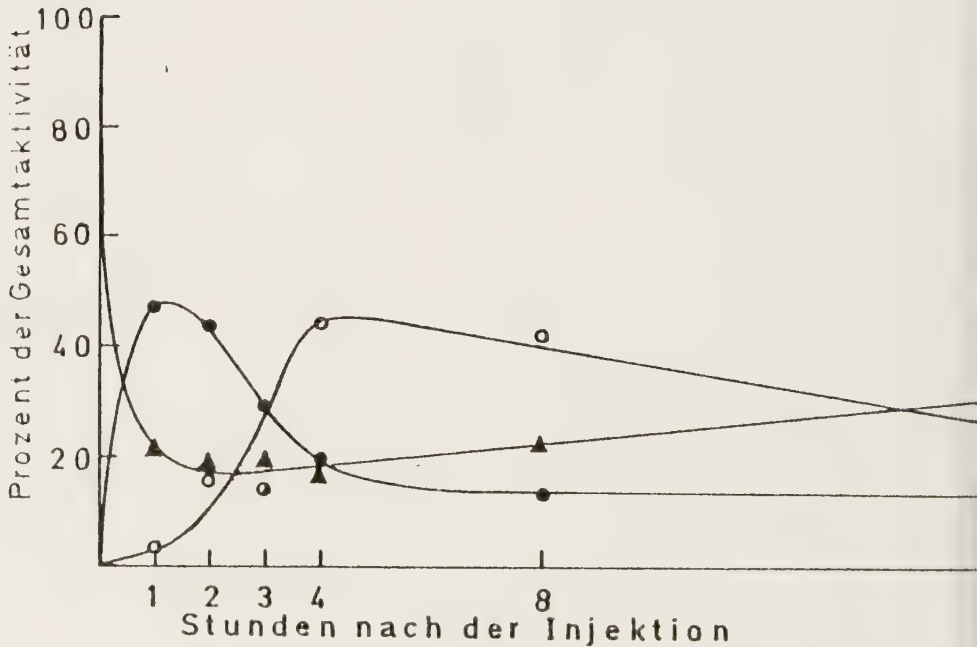


Abb. 4. Beträge des α -Ecdysons (▲), β -Ecdysons (●) und des Startzonenmaterials (○) in den Extrakten von 5 Tage alten Larven, aufgetragen gegen die Zeit.

c) Konzentration von β - Ecdyson während eines Häutungszyklus.

Die Umwandlungsrate des injizierten α - Ecdysons zu β - Ecdyson ist altersabhängig (Vergl. Abb. 5). Im ersten Drittel des Häutungszyklus ist sie wenig ausgeprägt (etwa 10 % β - Ecdyson im Durchschnitt), aber mit einem kleinen Peak am ersten Tag (20 % β - Ecdyson), der bereits nach zwei Stunden verschwunden ist (Abb. 5 und 6). Mit Beginn des zweiten Drittels nimmt der Umfang der β - Ecdysonbildung stark zu. Am 5. und am 6. Tag liegen 40 - 50 % der Gesamtaktivität nach einer Stunde in der Form des β - Ecdysons vor. Gegen Ende des Häutungszyklus ist die Umwandlungsrate des α - Ecdysons wieder gering. Auffallend ist der sprunghafte Anstieg der β - Ecdysonkonzentration zur Zeit des β - Ecdysonmaximums (Abb. 6). Am 5. Tag ist der Ecdysteronepeak schon nach fünf Minuten zur Hälfte ausgebildet und nach einer Stunde hat er sein Maximum erreicht. Der Abfall erfolgt im Vergleich zu den Verhältnissen bei *Calliphora* (Young, 1976 a,b) oder bei *Locusta* (Hoffman et al. 1974 a,b) sehr rasch. Nach etwa 4 Stunden ist der β - Ecdysonpeak weitgehend verschwunden und die β - Ecdysonkonzentration hat ein Niveau erreicht, das in dem untersuchten Zeitraum beibehalten wird. (Abb. 6).

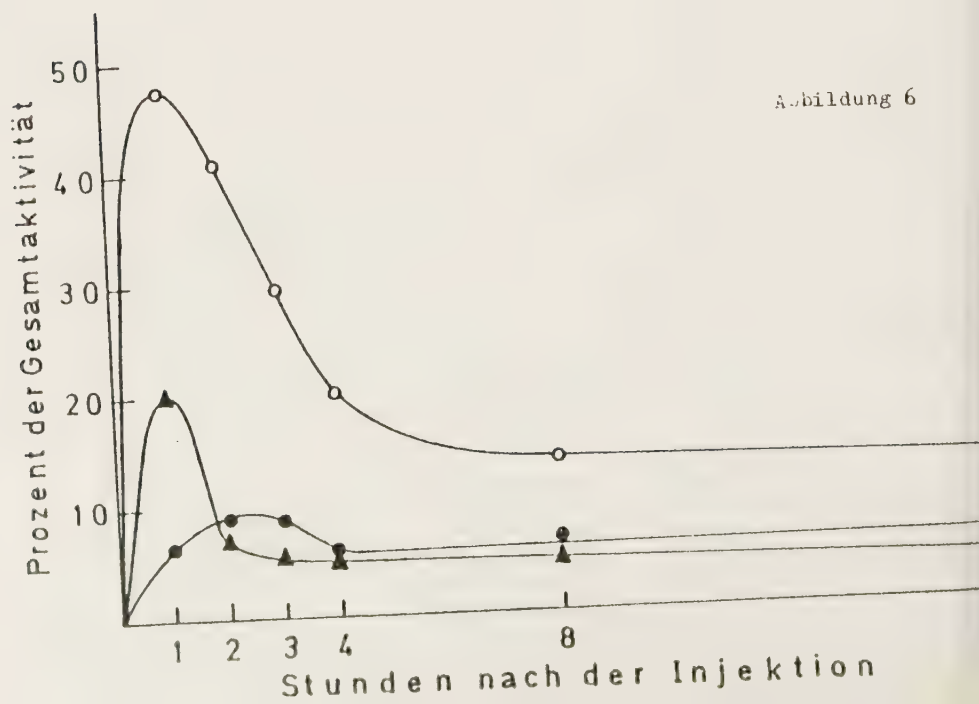
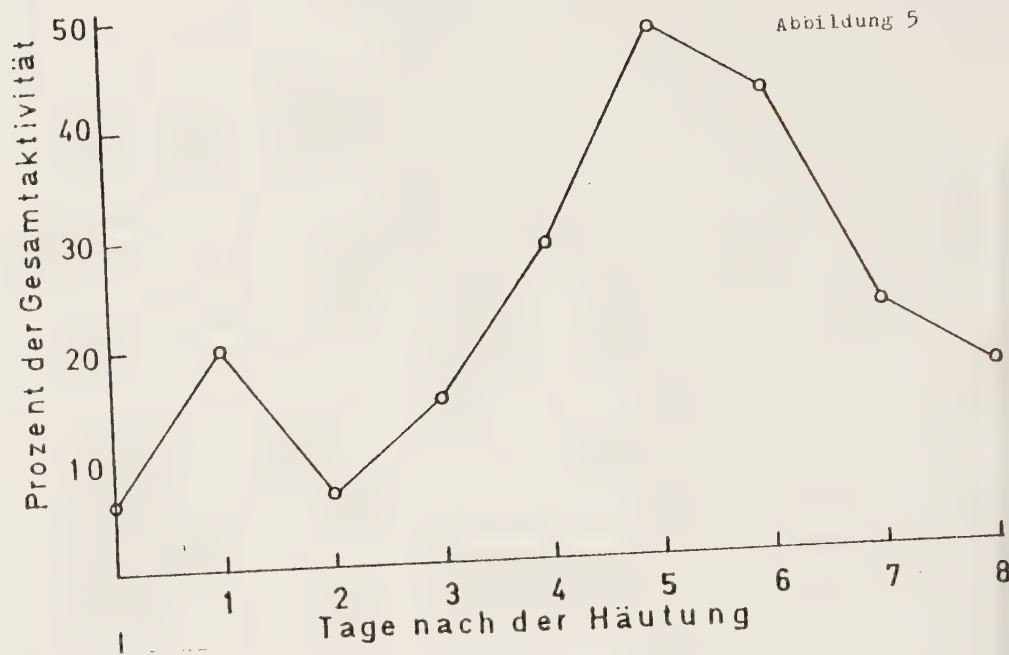
An den Tagen mit niedrigem Häutungshormontiter ist die Geschwindigkeit der β - Ecdysonbildung deutlich geringer. Die maximale Ausbildung des Peaks wird erst nach zwei Stunden erreicht (Abb. 6). Es folgt nun eine langsame Abnahme auf ein Niveau, das in den nächsten zwölf Stunden beibehalten wird. Es ist niedriger als am fünften Tag.

Ein Vergleich des Verlaufs der Kurven der α - Ecdysonkonzentration mit der der β - Ecdysonkonzentration zeigt ein spiegelbildliches Verhalten zueinander (Abb. 3 und 5). Der Ecdysonmetabolismus ist am fünften Tag am größten. Minima finden sich am Anfang und am Ende des Häutungszyklus. Die Halbwertszeiten über den ganzen Häutungszyklus hinweg liegen zwischen 0,3 und 1,7 Stunden.

Legende zu Abb. 5 und 6

Abb. 5: Umwandlung des α - Ecdysons zu β - Ecdyson während eines Häutungszyklus. Inkubationszeit 1 Stunde.

Abb. 6: Umwandlungsrate des α - Ecdysons zu β - Ecdyson, ausgedrückt in Prozent der in den Homogenaten wiedergefundenen Aktivität für Zeitintervalle bei unterschiedlich alten Larven: $\blacktriangle$ -- Tag 1; $\bullet$ -- Tag 2; $\circ$ -- Tag 5.



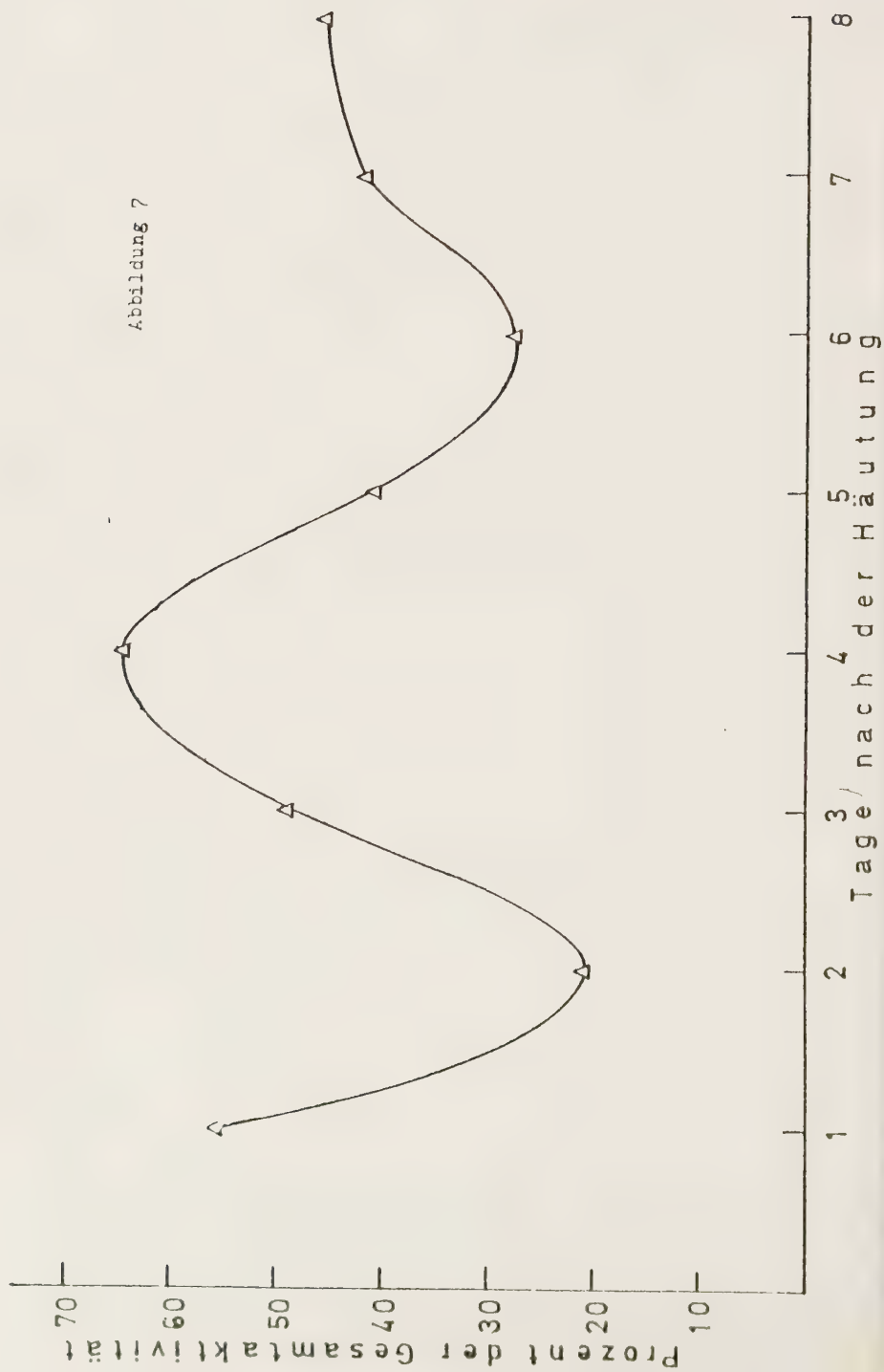
d. Konzentration des Startzonenmaterials während eines Häutungszyklus.

Die Verbindungen des Peak I sind bereits 1 Stunde nach der Injektion von α -Ecdyson anzutreffen. In einigen Versuchen, die mit kürzeren Applikationszeiten durchgeführt wurden, konnten sie ebenfalls- wenn auch noch in geringer Konzentration- nachgewiesen werden. Das bedeutet, daß bereits 15 Minuten p.i. (= post injectionem) ein Teil des α -Ecdysons bis zur Stufe der Endprodukte der Inaktivierung metabolisiert ist. Das Vorkommen von Substanzen des Peaks I, ausgedrückt als Prozent der in den Radiochromatogrammen vorhandenen Aktivitäten, ist in der Abb. 4 in Abhängigkeit von der Zeit p.i. dargestellt. Nach zunächst langsam verlaufender Zunahme erfolgt ein steiler Anstieg (3-4 Stunden p.i.). Nach etwa 4 Stunden ist ein Maximum erreicht, das im weiteren betrachteten zeitlichen Verlauf in etwa beibehalten wird.

In der Abb. 7 sind die Werte, die 8 Stunden p.i. gewonnen wurden, für die Tiere eines Häutungszyklus dargestellt. Die Kurve verläuft W-förmig, mit Minima am 2. und am 6. Tag. Somit ist auch für das Auftreten der Konjugatfraktion eine Beziehung zum endogenen Titer feststellbar. An den Tagen mit hohem Titer ist der Umfang der Inaktivierung vermindert. Diese Aussage gilt allerdings nur für die Tage 1 und 3 - 8. Denn der Titer ist ja nach Delbecq (1976) am 2. Tag niedrig und es wäre demnach eine hohe Inaktivierungsrate zu erwarten gewesen. Dieser Sachverhalt weist auf eine weitere Möglichkeit, den endogenen Titer niedrig zu halten, hin, nämlich auf eine verstärkte Exkretion (Vergl. hierzu Abb. 8 - 10 und Tab. 3)

Legende Abb. 7

Konzentration des Startzonenmaterials in den Extrakten von Tieren, die 8 Stunden nach der Injektion extrahiert wurden.



e) Exkretion

In den Extrakten von Larven, die 8 oder 16 Stunden inkubiert wurden, konnten an einigen Tagen nur noch zwischen 20 bis 50 % der injizierten Radioaktivität wiedergefunden werden. Es erwies sich daher als sinnvoll, die Untersuchung auch auf die Faeces auszudehnen. Wie Abb. 8 zeigt, ist die Exkretion vom 2. bis zum 5. und vom 7. bis zum 8. Tag von größerer Bedeutung. 50 bis 80 % der Gesamtaktivität finden sich noch acht Stunden in den Faeces wieder. Am ersten und am sechsten Tag wird nur sehr wenig ausgeschieden. Die Beziehung des endogenen Ecdysonititers zu der Exkretionsrate (Hoffmann et al., 1974 b; Schaller et al., 1975), geringe Exkretion an den Tagen mit hohem Titer und starke Exkretion an den Tagen mit geringer Ecdysonkonzentration, läßt sich für *Penebrio* nur bedingt feststellen. Als Minimum am ersten Tag war nämlich auf Grund der Titerkurven von Delbecq (1975) und von Lack und Hapf (1976) in diesem Umfang nicht zu erwarten. Die geringe Exkretionsrate wird aber durch die verstärkte Metabolisierung des injizierten α -Ecdysons zum größten Teil kompensiert, wie ein Vergleich der Tage eins und fünf zeigt. (Abb. 8 - 10 und Tab. 3).

1. Tag: In hier noch vorhandenes Ecdyson ($\alpha + \beta$) = 17,7 %/
Exkretionsrate = 3 %. 5. Tag: Ecdyson ($\alpha + \beta$) = 35,3 %/
Exkretionsrate = 60 %. Der Prozentsatz des in den Larven gefundenen Ecdysons bezogen auf die eingesetzte Aktivität beträgt damit für den ersten Tag 17,2 % und für den fünften Tag 14,5 %.

Durch eine verstärkte Metabolisierung ist es also möglich, auch bei geringer Exkretionsrate einen niedrigen endogenen Titer zu erreichen. Den umgekehrten Fall, daß ein niedriger Titer überwiegend über die Exkretion eingestellt wird, zeigen die Verhältnisse am 2. Tag. Der Anteil des α - und des β -Ecdysons an der Gesamtaktivität des Extraktes beträgt nach acht Stunden 27,5 % (Abb. 10). Zu diesem Zeitpunkt sind aber bereits 77 % des injizierten Hormons ausgeschieden (Abb. 9). Wenn man dies berücksichtigt, enthält der Extrakt nur noch 6,4 % der beiden Ecdysone (Abb. 10, untere Kurve).

Legende zu Abb. 8, 9, 10 und 11

Abb. 8: Prozentsatz der injizierten Radioaktivität, der nach 8 Stunden im Kot angetroffen wurde, während eines Häutungszyklus.

Abb. 9: Exkretionsrate verschieden alter Larven, dargestellt in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion.
 ●— 2 Tage; ○— 5 Tage; △— 6 Tage alte Larven.

Abb. 10: Nach 3 Stunden noch nicht metabolisierten Ecdyson (α + β) während eines Häutungszyklus. In der oberen Kurve ist der prozentuale Anteil auf die in den Homogenaten noch vorhandene Radioaktivität bezogen, bei der unteren Kurve (○) wurde die Exkretionsrate in Rechnung gestellt und der Ecdysongehalt auf die injizierte Menge bezogen.

Abb. 11: Die untere Kurve der Abb. 10 ist hier nach α - (○) und β - (●) Ecdyson aufgegliedert.

Prozent der Gesamtaktivität

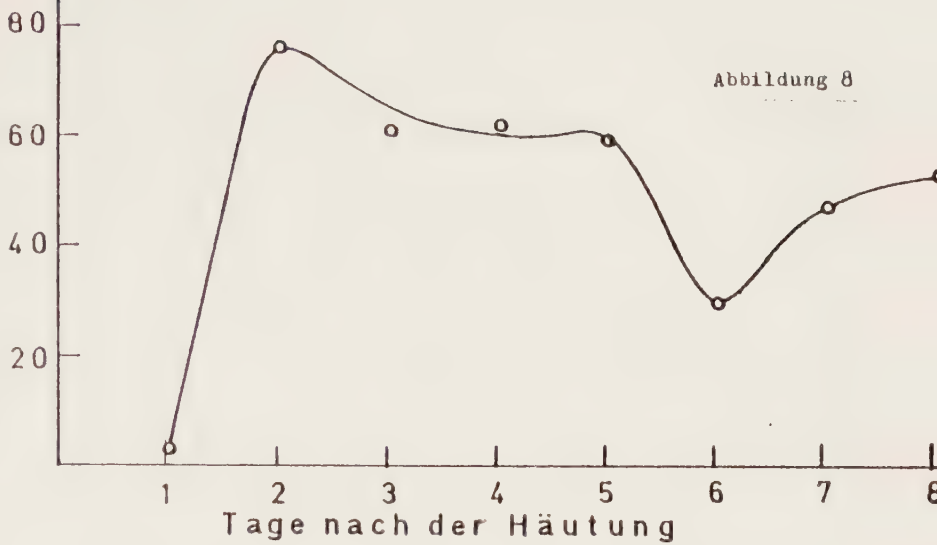


Abbildung 8

Prozent der Gesamtaktivität

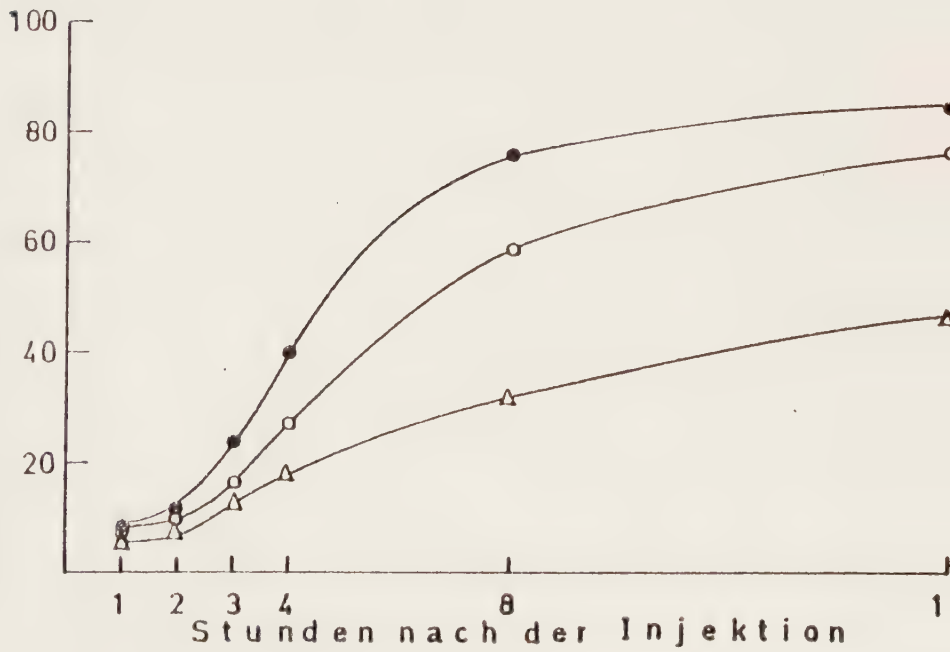
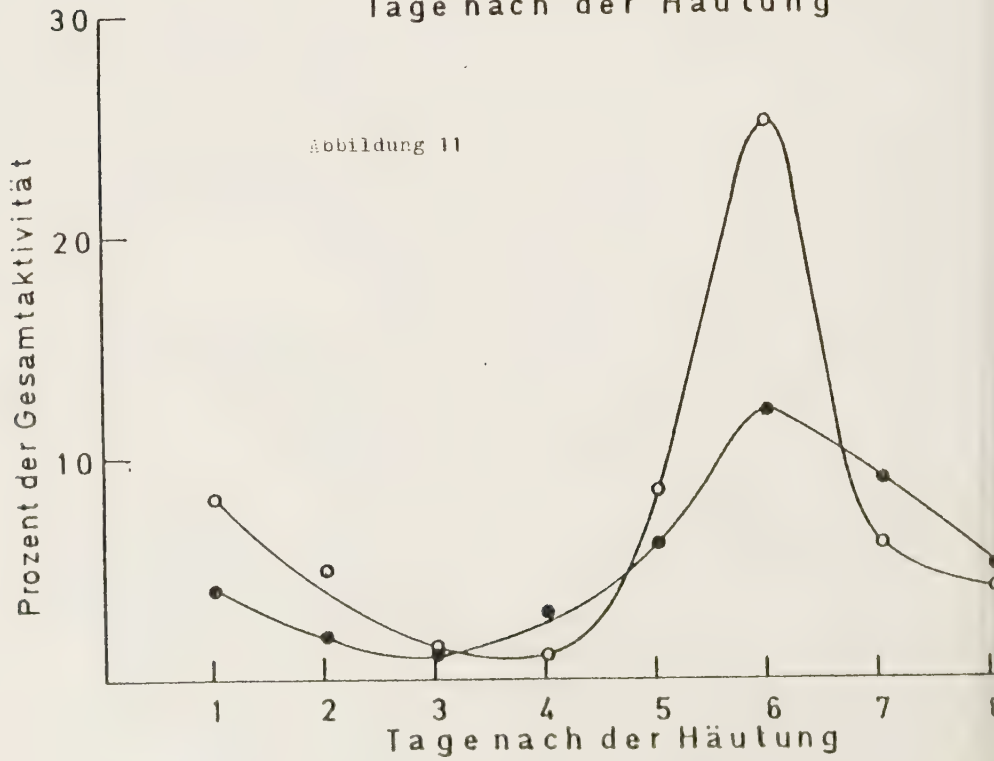
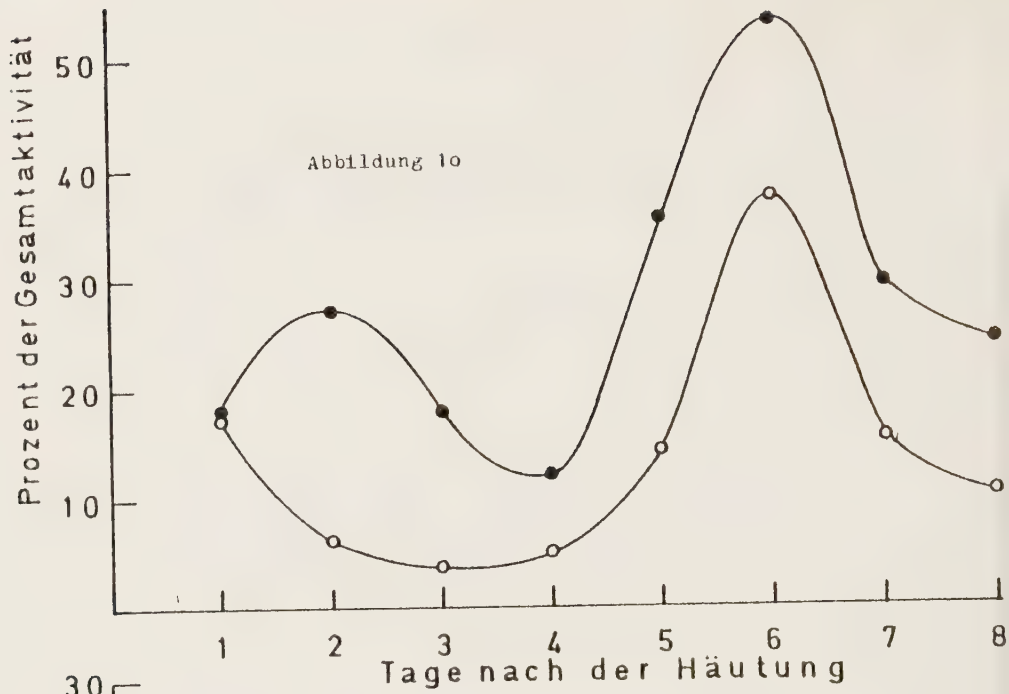


Abbildung 9



		Tage nach der Häutung							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Prozent der Gesamtaktivität ^b	im Tier	97	24	39	36	40	70	51	47
	in den Exkrementen	3	76	61	64	60	30	49	53
Peak 1 in ^a	im Tier	98	21	49	65	42	28	42	46
	in den Exkrementen	23	54	54	62	57	62	65	89
Peak 1 in ^b	im Tier	56	5	19	23	17	20	21	22
	in den Exkrementen	0,7	41	39	40	34	19	31	47
Peak 1 in ^b	im Tier und in den Exkrementen	57	46	58	63	51	39	52	69

Tabelle 3: Vorkommen der Konjugate in den Homogenaten ganzer Tiere und in den Exkrementen. Die mit "a" gekennzeichneten Angaben sind auf die in den Radiochromatogrammen wiederbefundene Aktivität bezogen; die mit "b" auf die injizierte Aktivität. Die Extraktion erfolgte 8 Stunden nach der Injektion.

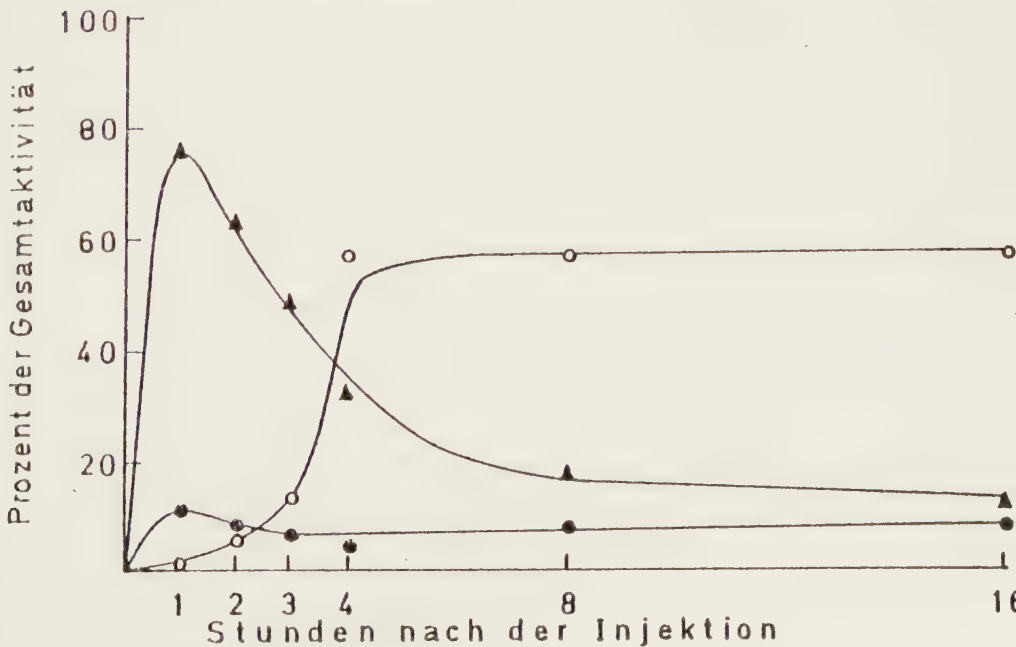


Abb. 12: Beträge von α -Ecdysone (▲), β -Ecdysone (●) und des Startzonmaterials (○) in den Extrakten der Exkremente von 5 Tage alten Larven, aufgetragen gegen die Zeit.

2. Bestimmung der Metaboliten des Ecdysons in den Puppen von *Tenebrio*.

a) Stoffwechsel des Ecdysons

^3H - α -Ecdyson wird von den Puppen in gleicher Weise metabolisiert, wie es für die Larven gezeigt wurde. In den Radiochromatogrammen ihrer Extrakte sind ebenfalls α -Ecdyson, β -Ecdyson und die Verbindung des Peaks I dominierend. Ihre prozentuale Verteilung zeigt sowohl in der Zeit als auch während des Puppenstadiums charakteristische Schwankungen, die im folgenden dargestellt werden sollen. Das Auftreten der Metaboliten II - IV und VII - VIII ist vergleichsweise wenig ins Gewicht fallend und zeigt darüberhinaus auch keinerlei Beziehungen zum endogenen Titel. Das Startzonenmaterial konnte enzymatisch mit Helicase gespalten werden und ergab die gleichen Metaboliten wie bei den Larven. Für die Puppen von *Tenebrio* liegen bereits Angaben über den endogenen Titer vor (Delbecque 1976). Zur Zeit der Häutung der Vorpuppe zur Puppe und der Puppe zur Imago ist der Hormontiter niedrig und im 4. und 5. Stadium maximal. Die Datierung der Puppen erfolgte bei diesen Versuchen nach Delachambre (Augenstadien + Sklerotisierungerscheinungen). Die soll auch hier beibehalten werden.

b) α -Ecdyson

Wie Abb. 13 zeigt, wird auch von den Puppen das injizierte α -Ecdyson während des ganzen Häutungszyklus rasch metabolisiert. Nach 4 Stunden liegen nur noch etwa 30 bis 10 % der gesamten Radioaktivität unverändert als α -Ecdyson vor. Die niedrigste Metabolisierungsrate ist am Anfang (Stadium 1), die höchste am Ende des Puppenstadiums, zu verzeichnen.

c) β -Ecdyson und Startzonenmaterial

Als Metabolisierungspunkte werden hauptsächlich β -Ecdyson und Startzonenmaterial gebildet. Die Hydroxylierung zu β -Ecdyson ist im Stadium 4 und 5 der wichtigste Stoffwechselschritt (Abb. 13). Eine Konjugation der Ecdysteroides findet zu diesem Zeitpunkt nur in geringem Umfang statt. Im Radiochromatogramme beträgt der Anteil für β -Ecdyson etwa 40 % während er für die polare Fraktion nur etwa 15 % beträgt.

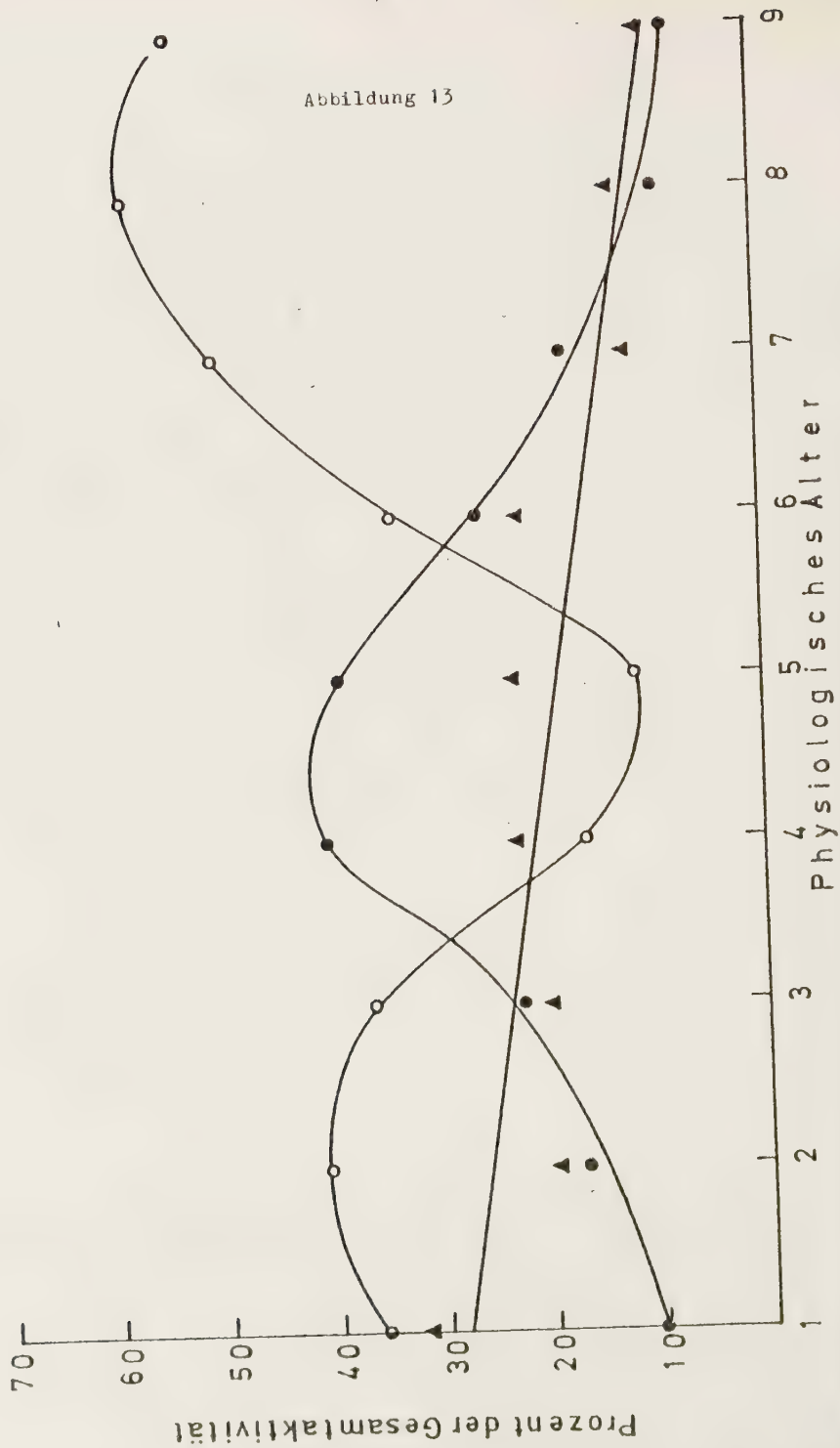
An den Tagen mit niedrigem endogenem Titer finden sich dagegen die umgekehrten Verhältnisse. Die β -Ecdysonbildung ist stark zurückgegangen. Die Radioaktivität liegt daher überwiegend als Material des Peaks I vor (Vergl. Abb. 13). Für zwei Puppenstadien (4 und 7) wurde das Auftreten der Metaboliten auch im zeitlichen Verlauf verfolgt. Bemerkenswert ist die nach 16 Stunden immer noch hohe Konzentration des β -Ecdysons in den Extrakten von Puppen des 4. Stadiums (Tab. 4).

Incubationszeit (in Stunden)	4. Stadium			7. Stadium		
	α -Ecdyson	β -Ecdyson	Startzonenmaterial	α -Ecdyson	β -Ecdyson	Startzonenmaterial
1	59	17	5	52	18	12
2	26	11	17	15	21	50
16	9	33	33	10	11	58

Tabelle 4: Metabolisierung von ^3H - α -Ecdyson durch die Puppen von *Tenebrio*. Die Metaboliten sind in % angegeben, bezogen auf die in einem Radiochromatogramm enthaltene Aktivität.

Legende von Abb. 13

Abb. 13: Beträge von α -Ecdyson ($\blacktriangle$), β -Ecdyson ($\bullet$) und Material von Peak I ($\circ$) in den Extrakten von Puppen unterschiedlichen Alters (Augenstadien). Die Extraktion erfolgte 4 Stunden nach der Injektion von α -Ecdyson.



• Bestimmung der Metaboliten in den Imagines

Ecdyson ist auch bei den Imagines von verschiedenen Insektenarten nachgewiesen worden (Shaaya et al. 1965; Bordereau et al. 1976; Delbecque 1976; Lagueux et al. 1976; Romer 1977). Titerbestimmungen von *Tenebrio molitor* liegen von Delbecque (1976) vor für Imagines vor Tag der Häutung und für eine Woche alte Tiere.

Die gefundenen Werte sind sehr niedrig und lassen keine Unterschiede zwischen weiblichen und männlichen und zwischen jungen und alten Tieren erkennen. Die Metabolisierungsgeschwindigkeit des injizierten α -Ecdysons ist wie erwartet hoch (Tab. 5):

Nach 4 Stunden sind für alle untersuchten Stadien mehr als 70% umgewandelt; in einem Falle, nämlich bei 5 Tagen alten Weibchen, sind es mehr als 95%. Die Metabolisierungsprodukte entsprechen den bei Puppen und Larven gefundenen. Ein Unterschied besteht allerdings bei den 5 Tagen alten Imagines, die ein in die Unfeng bisher noch nicht aufgetretenes Vorkommen der apolaren Metaboliten kennzeichnet. (etwa 15%).

Die Metabolisierung des α -Ecdysons zeigt für null Tage alter Imagines keine geschlechtsspezifischen Unterschiede, während solche für die 5 Tage alten Tiere feststellbar sind (Vergl. Tab. 5). Neben einer bereits genannten hohen Metabolisierungsrate und dem verstärkten Auftreten der apolaren Metaboliten sind bei ihnen noch eine hohe β -Ecdysonkonzentration (etwa 20%) und nur noch wenig α -Ecdyson (4%) nachweisbar.

Metabolit	0. Tag		5. Tag	
	♂	♀	♂	♀
I	0	0	54	43
II	33	0	0	2
III	Sp	Sp	3	5
IV	0	5	Sp	3
V (L)	0	6	9	20
VI (α)	0	29	21	4
VII	0	4	5	5
VIII	0	7	2	10

Tabelle 5: Metabolismus des injizierten α -Ecdysons durch die Imagines. Die Extraktion erfolgte 4 Stunden nach der Injektion. Angaben in % der in einem Extrakt enthaltenen Aktivität. Sp = Spuren.

4. Metabolisierung des α -Ecdysons durch verschiedene Organe unter in vitro Bedingungen

a) Untersuchte Organe und von ihnen gebildete Metaboliten.

Um die Frage zu klären, welche Organe und Gewebe der Larven von *Tenebrio α -Ecdyson* zu metabolisieren vermögen, wurden zunächst Larven gleichen Alters präpariert und ihnen Fettkörper, Malpighigefäße, Darm, Epidermis, Prothoraxdrüsen, Oenocyten, Hämolymphe entnommen. Die isolierten Organe (aus jeweils zwei Tieren) wurden sorgfältig gespült und dann in 0,5 ml eines Mediums, dessen pH 6,9 und dessen Osmolarität 520 m Osmol betrug (Angaben nach Romer et al. 1974) für 24 Stunden bei 30°C unter leichtem Schütteln inkubiert. Zu jedem Ansatz wurde eine Ecdysonlösung von etwa 200000 cpo gegeben. Zur Beendigung der Inkubation wurde 1 ml absolutes Methanol zugefügt. Die Organe wurden in 60 % igem Methanol in einem Potter Homogenisator homogenisiert und zusammen mit dem Medium eingeeengt und chromatographiert. Da die Versuchsansätze, insbesondere die des Darms und des Fettkörpers, häufig durch Bakterienbefall stark getrübt waren, wurde dem Medium für die weiteren Versuche Penicillin und Streptomycin zugefügt. Damit konnte ausgeschlossen werden, daß die beobachteten Umsetzungen durch einen Abbau durch Mikroorganismen erfolgten.

Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle 6 zusammengefaßt.

Auf die Hämolymphe und das Integument sind alle Organe zur Metabolisierung des α -Ecdysons befähigt. Dabei werden die gleichen Metaboliten gebildet, wie sie auch in den Extrakten der in vivo Experimente angetroffen wurden (Vergl. Abb. 1). Die Bildung der apolaren Metaboliten ist hier allerdings nur in Spuren zu beobachten. Die wichtigsten Metaboliten sind auch hier β -Ecdyson und Startzonematerial. Während ihre Beträge bei den meisten etwa gleich sind, oder das Startzonematerial anteilmäßig überwiegt, bildet der Darm immer mehr β -Ecdyson als Material des Peaks I (Vgl. Tabelle 6). Aus dieser Tabelle ist aber auch ersichtlich, daß in den Inkubaten des Darms noch hohe Beträge an nichtmetabolisiertem α -Ecdyson vorhanden sind.

Tabelle 6

Gewebe	Verbindung I	β - Ecdyson	α - Ecdyson	Umsatz
Integument	3,3	2	88	12
Muskulatur	8	8	67	33
Ptd	12	10	66	34
Hämolymphe	Sp	Sp	92	(8)
Malpighige- fasse	2	13	62	38
Darm	1,3	18	54	46
Vorderdarm	2,2	10	63	37
Hinterdarm	3	12	65	35
Darminhalt	7,2	4	62	38
Oöocyten	7	14	55	45
Fettkörper	40	31	5	95

Metabolisierung des α - Ecdysons durch die Gewebe von *Tenebrio* unter in vitro Bedingungen. Die Angaben in β sind bezogen auf die in den jeweiligen Chromatogrammen wieder gefundene Aktivität. Die Gewebe wurden 5 Tage alten Tieren entnommen.

b) Untersuchung der Stoffwechselaktivität des Fettkörpers

I. Umsatzrate

Der Fettkörper ist mit einer Umsatzrate von über 90 % bei weitem das stoffwechselaktivste Organ (Vergl. Tab. 6). In den Inkubaten ist der überwiegende Anteil der Radioaktivität im Medium anzutreffen. Lediglich 8 % sind im Gewebe. Wie ein Vergleich der Radiochromatogramme beweist, besteht die Aktivität im Gewebe nicht aus einer Anhäufung eines bestimmten Metaboliten. Vielmehr entspricht die Verteilung der Metaboliten weitgehend der im Medium

II. Umsatzgeschwindigkeit

Die Umsatzgeschwindigkeit des α - Ecdysons ist sehr hoch. Bereits nach zwei Stunden sind über 70 % des Hormons metabolisiert. Nach 16 Stunden sind es etwa 90 %. Eine zeitliche Folge im Auftreten der Metaboliten läßt sich nicht nachweisen. Zu beiden Zeitpunkten

sind die Metaboliten und auch ihr Verhältnis zueinander gleich.

III. Abhängigkeit des Umsatzes von der Gewebemenge

Um zu klären, ob die hohe Stoffwechselaktivität des Fettgewebes ihren Grund in der zum Vergleich zu anderen Organen größeren Gewebemenge findet, wurden verschiedene Mengen Gewebe mit

α - Ecdyson inkubiert. Die Ergebnisse sind in der Abb. 14 dargestellt. Bereits $3 \cdot 10^{-4}$ g, das sind etwa 1/40 des Fettgewebes einer Larve, vermögen die eingesetzte Menge α - Ecdyson zu etwa 60 % zu metabolisieren. Die Inkubation der 20 fachen Menge Gewebe erbringt nur noch eine im Verhältnis geringe Steigerung (auf 75 % Umsatz).

Die angeführten Versuche über die Dynamik der Metabolisierung des Ecdysons durch den Fettkörper zeigen

1. α - Ecdyson wird durch das Gewebe sofort aufgenommen.
2. Das aufgenommene Hormon wird ebenso rasch metabolisiert.
3. Das metabolisierte Hormon wird nicht im Gewebe gespeichert.
4. Das Fettgewebe zeigt bereits in geringen Mengen hohe Umsatzraten.

Wegen der hohen Stoffwechselaktivität des Fettkörpers stellt sich natürlich auch die Frage, ob die beobachteten Umsetzungen einiger Organe, die nur schwierig frei von Fettgewebe zu präparieren sind (z.B. Muskulatur) nicht etwa auf Spuren von Fettgewebe zurückzuführen sind.

c. Metabolismus des α - Ecdysons in den Inkubaten von Fettkörper, Oenocyten, Darm und Malpighigefäßen während eines Hautungszyklus

I. Umsatz

In vivo wurden Variationen im Auftreten von β - Ecdyson und des Startzonenmaterials, die in Beziehung zum endogenen Titer standen, beschrieben. Um zu klären, ob diese Aktivitätsänderungen der C - 20 Hydroxylase und des inaktivierenden Enzymsystems auch in vitro ihre Entsprechung finden, wurden folgende Organe in Gewebekultur genommen: Fettkörper, Darm, Oenocyten, Malpighigefäße. Die Organe entstammten jeweils zwei Tieren. Da sie immer vollständig präpariert werden konnten, können auch ihre



Abb. 14: In vitro Metabolismus des α-Bodysons durch das larvale Fettgewebe (von 5 Tage alten Tieren). Die Abnahme der Konzentrationen des α-Bodysons (O) und die Zunahme der Konzentrationen von β-Bodysen (Δ) und Startkonzentrationsmaterial (●) sind in Abhängigkeit von der Gewebemenge dargestellt.

Stoffwechselleistungen innerhalb des Larvenstadiums direkt verglichen werden. Für den beabsichtigten Vergleich ist es also nicht nötig die spezifischen Aktivitäten zu berechnen.

In den Abbildungen 15 - 18 sind die Umsatzraten der untersuchten Organe für α -Ecdyson während des Häutungszyklus dargestellt. Zu jedem Zeitpunkt sind alle Organe aktiv. Die Werte liegen bei 30 - 95 % Umsatz. Die höchsten Werte wurden für den Fettkörper gemessen. Alle Organe zeigen mehr oder weniger deutliche Aktivitätsschwankungen. Ihre Maxima und Minima liegen nicht in jedem Fall gleich. Die Aktivitätskurven des Fettkörpers und der Malpighigefäße verlaufen weitgehend parallel, wobei die Malpighigefäße das niedrigere Niveau einnehmen. Die Aktivitätsminima fallen jedoch nicht zusammen, sondern sind um einen Tag verschoben (5./6. Tag). Die Umsatzkurve des Darms verläuft zu der der Malpighigefäße weitgehend gegenläufig. Von den Oenocyten wird während des ganzen Häutungszyklus annähernd der gleiche Prozentsatz des α -Ecdysons umgesetzt. Bemerkenswert ist der Befund, daß am 6. Tag alle Organe die gleiche Aktivität haben (Vergl. Abb. 15 - 18).

Legende zu Abb. 15 - 18

Abb. 15 - 18: Inkubation verschiedener Gewebe mit ^3H - α -Ecdyson (200000 cpm). Fettkörper (Abb. 15), Malpighigefäße (Abb. 16), Darm (Abb. 17), Oenocyten (Abb. 18). Die Inkubation erfolgte 16 Stunden bei 30°C. In den Abbildungen ist die jeweils umgesetzte Menge angegeben.

Abbildung 15

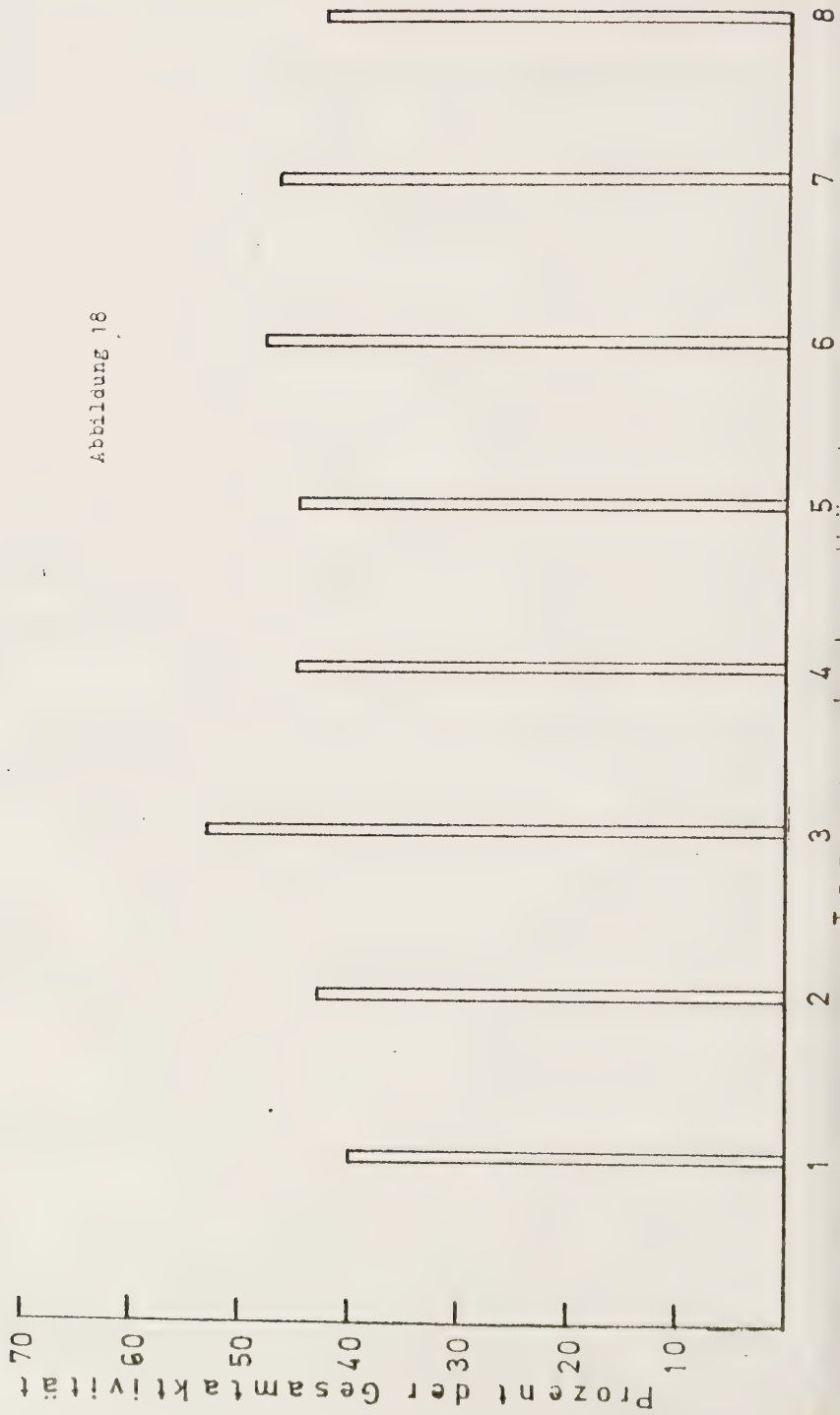


Abbildung 16





Abbildung 18



II. β - Ecdyson

Die C-20 Hydroxylase der untersuchten Organe zeigt während eines Häutungszyklus unterschiedliche Aktivitätsphasen. Für den Fettkörper kann ausgehend von den Minimalwerten am Anfang des Häutungszyklus (19 %) eine progressive Hydroxylierungsrate bis zum 5. Tag (Maximum, 31 %) festgestellt werden.

(Tabelle 7 u. Abb. 19)

Vom 6. Tag an (29 %), fällt dann der Anteil des β - Ecdysons in den Radiochromatogrammen stetig ab. Offensichtlich ist also an den Tagen mit hohem endogenen Titer eine verstärkte Ecdysteronbildung durch den Fettkörper vorhanden.

Diese für den Fettkörper beobachtete Beziehung ist für den Darm, für die Oenocyten und für die Malpighigefäße nicht zu erkennen. Der jeweilige Anteil des Ecdysterons in den Radiochromatogrammen kann von Tag zu Tag stark schwanken: zwischen 3 und 18 % (Oenocyten und Darm), oder er verändert sich nur wenig (Malpighigefäße, Mittelwert von etwa 12 %). Die Aktivitätsphasen von Darm und Oenocyten sind bis zum 6. Tag um einen Tag verschoben und verlaufen dadurch gegenläufig (Tab. 7, Abb. 20 - 22). Der progressive Anstieg der Ecdysonoxidasetätigkeit des Fettkörpers fällt größtenteils mit einer hohen Umsatzrate des eingesetzten Hormons zusammen (Vergl. hierzu Abb. 19). Am 6. Tag allerdings, an dem der Ecdysteronanteil nur wenig niedriger ist als im Maximum, ist die Metabolisierungsrate des Fettkörpers minimal. Das bedeutet, daß bis zum 5. Tag ein immer größerer Anteil des α - Ecdysons zu β - Ecdyson aufoxidiert wird: Es sind im Maximum am 5. Tag 30 %. Am 6. Tag aber liegt trotz hohem β - Ecdysonanteil im Radiochromatogramm das inkubierte α - Ecdyson nur zu 12 %, als β - Ecdyson vor.

Zur Beurteilung, ob das beobachtete Vorkommen eines Metaboliten in einem Radiochromatogramm signifikant ist, ist es also nötig, auch die jeweilige Umsatzrate zu berücksichtigen. Dies ist in den folgenden Abbildungen (Abb. 19 - 22, schwarze Säulen) erfolgt. Hier ist das Vorkommen der Metaboliten auf eine Ausgangsmenge von 200000 cpm bezogen. Durch diese Betrachtungsweise wird es auch möglich, die Leistungen der einzelnen Organe beim Zustandekommen eines bestimmten β - Ecdyson- oder Startzonenmaterialniveaus zu einem gegebenen Zeitpunkt abzuschätzen. (Abb. 19 - 22 und Tab. 7)

Fortsetzung Seite 46

Gewebe	Alter der Ausgangstiere	α -Ecdyson	Umsatz	β -Ecdyson		Peak I	
				a	b	a	b
Malpighi- gefäße	1	51	49	13	6	17	9
	2	55	45	11	5	12	6
	3	34	66	13	9	53	22
	4	23	77	12	10	40	31
	5	62	38	13	5	2	0,8
	6	53	47	12	6	14	7
	7	46	54	11	6	19	10
	8	41	59	10	6	22	13
Darm	1	66	34	10	4	3	1
	2	53	47	13	6	11	5
	3	51	49	13	9	6	3
	4	69	31	8	2	2	0,6
	5	54	46	18	9	1	0,6
	6	56	44	15	7	3	1
	7	54	46	15	7	4	1
	8	51	49	14	7	3	2
Fettge- webe	1	12	88	19	16	50	43
	2	29	71	11	8	26	19
	3	9	91	19	17	52	48
	4	8	92	20	19	47	43
	5	5	95	31	29	40	38
	6	55	45	29	13	13	6
	7	37	63	11	13	35	22
	8	10	90	16	14	55	40

Gewebe	Alter der Ausgangstiere	α - Ecdyson	Umsatz	β - Ecdyson		Peak I	
				a	b	a	b
Oenocyten	1	60	40	16	6	5	2
	2	57	43	19	8	2	0,7
	3	47	53	8	4	16	9
	4	55	45	14	6	7	3
	5	55	45	14	6	7	3
	6	52	48	12	6	14	7
	7	53	47	11	5	13	6
	8	57	43	8	4	9	4

Tabella 7: Inkubation verschiedener Organe während 16 Stunden bei 30°C mit α - Ecdyson. Die nicht näher oder mit „b“ gekennzeichneten Werte sind auf die eingesetzte Aktivität bezogen. Die unter „a“ zusammengefaßten sind auf die in einem Chromatogramm gefundenen Counts bezogen.

Legende zu den Abb. 19 - 22

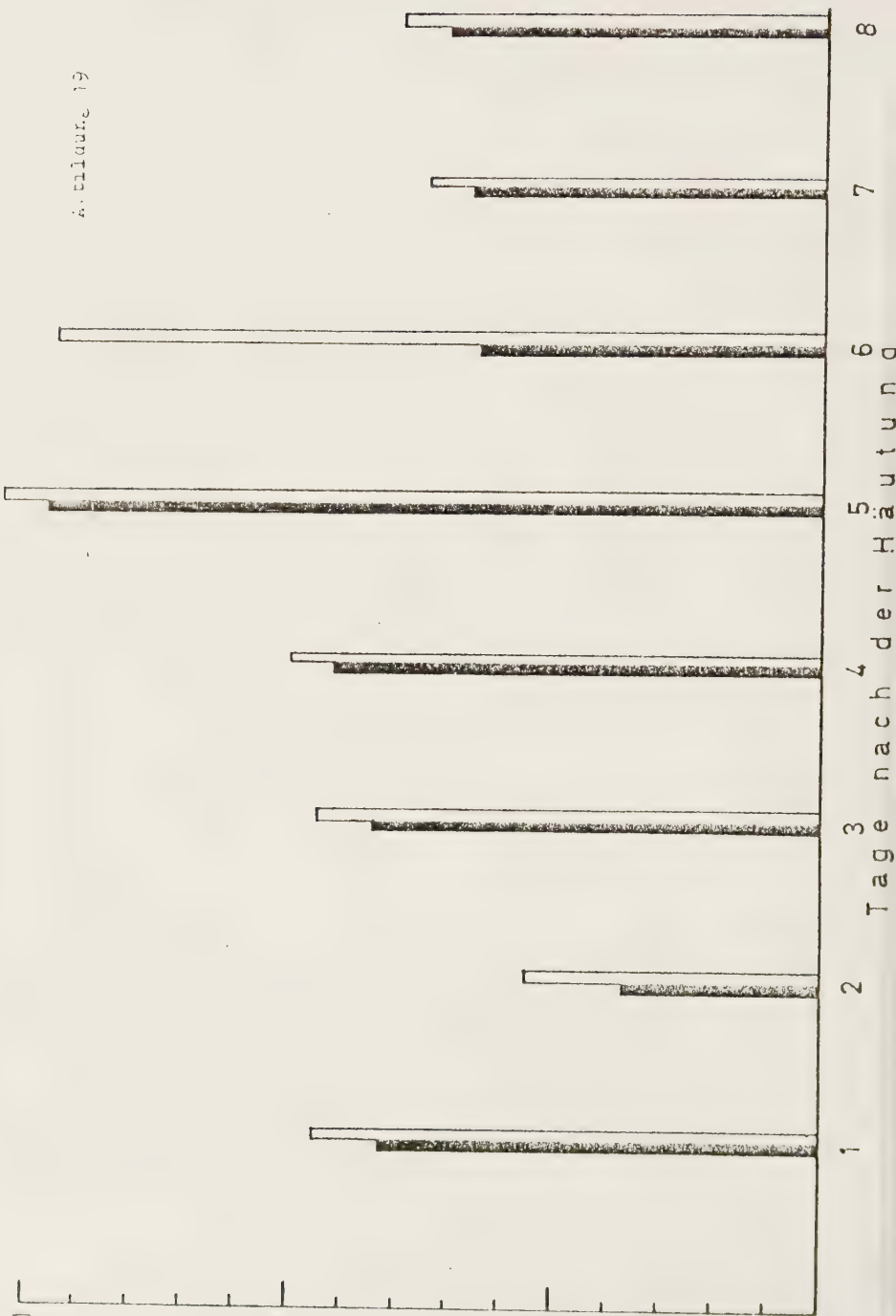
Abb. 19: Inkubation des Fettgewebes. Die leeren Säulen geben die in den Chromatogrammen enthaltenen β - Ecdysonanteile wieder, die ausgefüllten, den β - Ecdysonanteil, der sich ergibt unter der Berücksichtigung der jeweiligen Umsatzraten.

Abb. 20: Inkubation des Darms. Legende wie Abb. 19.

Abb. 21: Inkubation der Malpighigefäße. Legende wie Abb. 19.

Abb. 22: Inkubation der Oenocyten. Legende wie Abb. 19.

Prozent der Gesamtkaktivität



4. Februar 19

20

Prozent der Gesamtaktivität

10

1

2

3

4

5

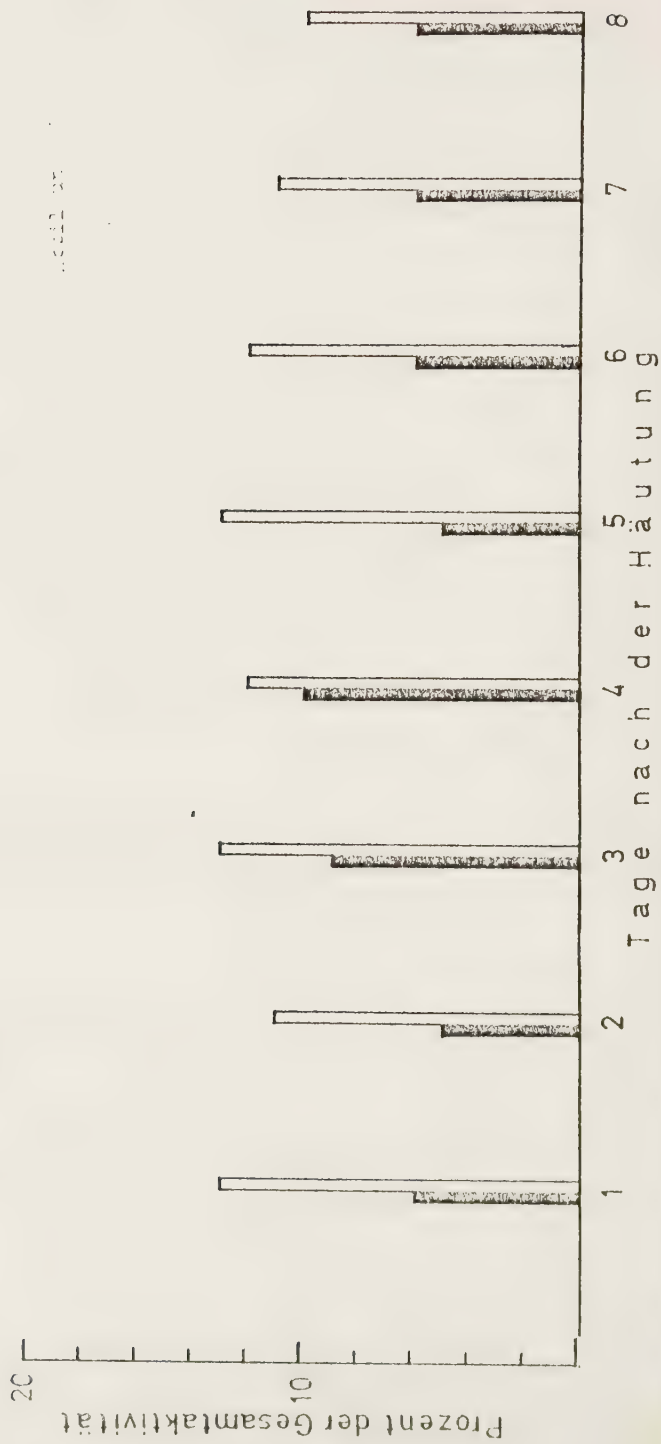
6

7

8

Tage nach Häutung

100
80
60
40
20
0



Prozent der Gesamtaktivität

20

10

1

2

3

4

5

6

7

8

Tage nach Häutung

100
80
60
40
20
0



Die Abbildungen 19–22 zeigen die Ecdysteronbildung durch die einzelnen Organe. In der Abbildung 23 sind für jeden Tag die Einzelwerte aller Organe aufsummiert worden und graphisch dargestellt. Diese Kurve entspricht weitgehend dem Verlauf der Kurve der β -Ecdysonkonzentration, wie sie während eines Häutungszyklus der Larven nach der Injektion von α -Ecdyson in vivo gefunden wurde. (Vergl. Abb. 5). Der Vergleich der Abb. 23 mit den Kurven, die sie zusammensetzen, zeigt, daß ihr Verlauf überwiegend durch die Veränderungen der α -20-Hydroxylasetätigkeit des Fettgewebes bestimmt wird. Darm, Malpighigefäße und Oenocyten sind zwar ebenfalls beteiligt. Ihr Vermögen, β -Ecdyson zu bilden, kommt aber erst zum Tragen, wenn die Hydroxylasetätigkeit des Fettkörpers zurückgeht. An diesen Tagen unterscheiden sich die Aktivitäten der einzelnen Gewebe nur wenig, so daß sogar angenommen werden kann, daß die peripheren Organe einen überwiegenden Anteil an der β -Ecdysonbildung haben. Inwieweit sie auch an den anderen Tagen beteiligt sind, ist unklar.

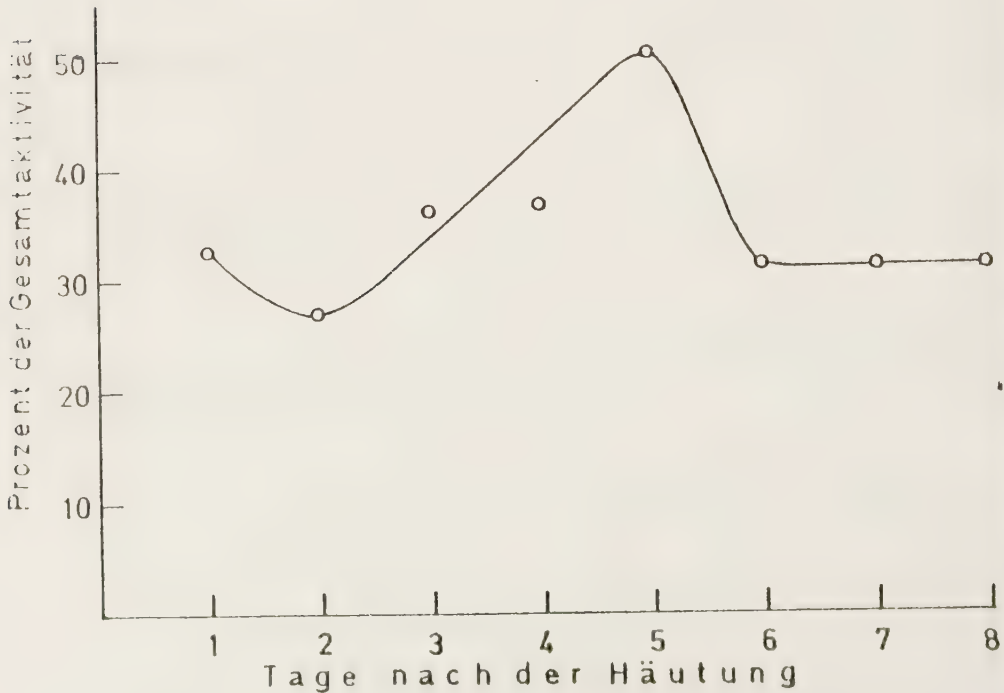


Abb. 23: Die Einzelwerte der β -Ecdysonkonzentrationen in den Inkubaten von Fettkörper, Malpighigefäßen, Darm und Oenocyten (Abb. 19–22, ausgefüllte Säulen) sind für jeden

III. Startzonenmaterial

Das inaktivierende Enzymsystem der einzelnen Organe zeigt unterschiedliche Aktivitätsphasen, abhängig vom Alter der Ausgangstiere. In den Radiochromatogrammen des Fettkörpers betragen die Anteile des polaren Materials vom 3. - 5. und am 1. und am 6. Tag zwischen 40 und 50 %. Am 2. Tag liegt 25 % der Radioaktivität eines Chromatogramms als Material des Peaks I vor und am 6. Tag nur etwa 13 % (Vergl. Tab. 7, Abb. 24). Offensichtlich wird also bei hohem endogenen Titer (Tag 6)

α -Ecdyson nur in geringem Umfang durch das Fettgewebe inaktiviert. Besonders deutlich wird dieses Verhalten durch die Einbeziehung der Umsatzraten. Dies ist in der Abb. 24. erfolgt. Neben dem Fettkörper vermögen auch die Kapillargefäße α -Ecdyson in hohen Beträgen zu metabolisieren. Der Umfang der Konjugatbildung ist während des größten Teils des Häutungszyklus hinweg niedrig (<20 %), nimmt aber am 3. und 4. Tag stark zu. Die Werte liegen mit 35 - 40 % nur wenig unter den Durchschnittswerten der für den Fettkörper gefundenen. Da diese Aktivitätsphase ebenfalls mit einer Steigerung des Umsatzes einhergeht (Tab. 7), ist an diesen Tagen den Kapillargefäßen eine größere Bedeutung bei der Bildung der Konjugate zuzusprechen (Abb. 25)

In den Chromatogrammen der Oenocyten und des Darms sind die Konzentrationen vergleichsweise gering. Unter der Einbeziehung der zur gleichen Zeit niedrigen Umsatzraten (meist weniger als 50 %) vermag keines dieser Organe mehr als 10 % einer gegebenen Ecdysonmenge zu inaktivieren. Bei den Oenocyten lassen sich zwei Phasen erhöhter Aktivität feststellen (Tag 3: 9 % und Tag 6 und 7: 6, bzw. 7 %) und beim Darm eine (Tag 2 und 3: 5, bzw. 3 %). (Abb. 26, 27)

In der Abb. 28 sind für jeden Tag die gefundenen Einzelwerte aller untersuchten Organe aufsummiert und graphisch dargestellt. Die so entstandene Kurve zeigt einen ähnlichen Verlauf, wie sie für das inaktivierende Enzymsystem bei den in vivo Experimenten gefunden wurde (Vergl. Abb. 7): Während des ganzen Häutungszyklus hinweg ein relativ hohes Niveau des Startzonenmaterials, zwei Minima, eines davon am 2. Tag, das andere am 6. Tag.

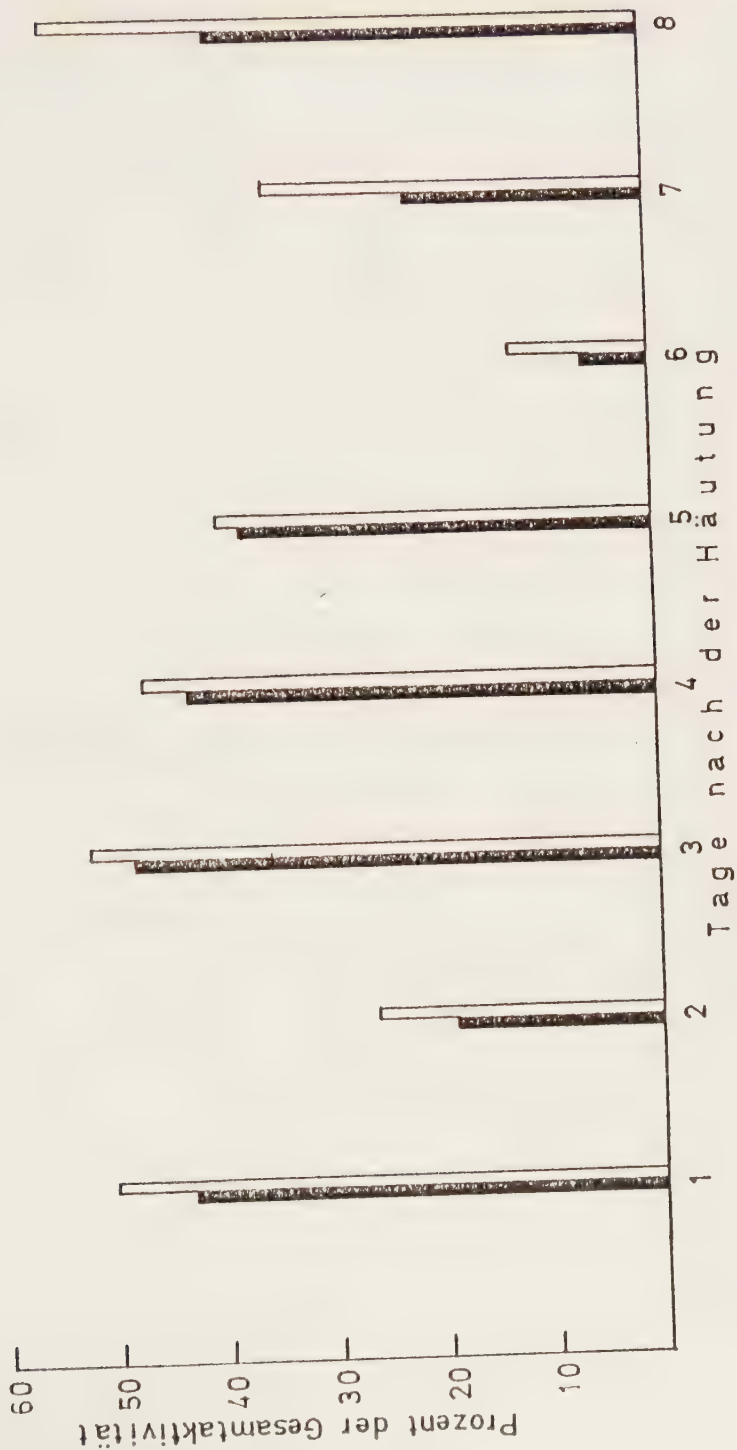
Legende zu den Abb. 24 - 27

Abb. 24: Inkubation des Fettgewebes. Die leeren Säulen geben die in den Chromatogrammen enthaltenen Anteile des Startzonenmaterials wieder, die ausgefüllten, die Anteile, die sich unter der Berücksichtigung der jeweiligen Umsatzraten ergeben.

Abb. 25: Inkubation der Malpighi Gefäße. Legende wie Abb. 24.

Abb. 26: Inkubation des Darms. Legende wie Abb. 24.

Abb. 27: Inkubation der Oenocyten. Legende wie Abb. 24.



1
 2
 3
 4
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 23
 24
 25
 26
 27
 28
 29
 30
 31
 32
 33
 34
 35
 36
 37
 38
 39
 40
 41
 42
 43
 44
 45
 46
 47
 48
 49
 50
 51
 52
 53
 54
 55
 56
 57
 58
 59
 60
 61
 62
 63
 64
 65
 66
 67
 68
 69
 70
 71
 72
 73
 74
 75
 76
 77
 78
 79
 80
 81
 82
 83
 84
 85
 86
 87
 88
 89
 90
 91
 92
 93
 94
 95
 96
 97
 98
 99
 100
 101
 102
 103
 104
 105
 106
 107
 108
 109
 110
 111
 112
 113
 114
 115
 116
 117
 118
 119
 120
 121
 122
 123
 124
 125
 126
 127
 128
 129
 130
 131
 132
 133
 134
 135
 136
 137
 138
 139
 140
 141
 142
 143
 144
 145
 146
 147
 148
 149
 150
 151
 152
 153
 154
 155
 156
 157
 158
 159
 160
 161
 162
 163
 164
 165
 166
 167
 168
 169
 170
 171
 172
 173
 174
 175
 176
 177
 178
 179
 180
 181
 182
 183
 184
 185
 186
 187
 188
 189
 190
 191
 192
 193
 194
 195
 196
 197
 198
 199
 200
 201
 202
 203
 204
 205
 206
 207
 208
 209
 210
 211
 212
 213
 214
 215
 216
 217
 218
 219
 220
 221
 222
 223
 224
 225
 226
 227
 228
 229
 230
 231
 232
 233
 234
 235
 236
 237
 238
 239
 240
 241
 242
 243
 244
 245
 246
 247
 248
 249
 250
 251
 252
 253
 254
 255
 256
 257
 258
 259
 260
 261
 262
 263
 264
 265
 266
 267
 268
 269
 270
 271
 272
 273
 274
 275
 276
 277
 278
 279
 280
 281
 282
 283
 284
 285
 286
 287
 288
 289
 290
 291
 292
 293
 294
 295
 296
 297
 298
 299
 300
 301
 302
 303
 304
 305
 306
 307
 308
 309
 310
 311
 312
 313
 314
 315
 316
 317
 318
 319
 320
 321
 322
 323
 324
 325
 326
 327
 328
 329
 330
 331
 332
 333
 334
 335
 336
 337
 338
 339
 340
 341
 342
 343
 344
 345
 346
 347
 348
 349
 350
 351
 352
 353
 354
 355
 356
 357
 358
 359
 360
 361
 362
 363
 364
 365
 366
 367
 368
 369
 370
 371
 372
 373
 374
 375
 376
 377
 378
 379
 380
 381
 382
 383
 384
 385
 386
 387
 388
 389
 390
 391
 392
 393
 394
 395
 396
 397
 398
 399
 400
 401
 402
 403
 404
 405
 406
 407
 408
 409
 410
 411
 412
 413
 414
 415
 416
 417
 418
 419
 420
 421
 422
 423
 424
 425
 426
 427
 428
 429
 430
 431
 432
 433
 434
 435
 436
 437
 438
 439
 440
 441
 442
 443
 444
 445
 446
 447
 448
 449
 450
 451
 452
 453
 454
 455
 456
 457
 458
 459
 460
 461
 462
 463
 464
 465
 466
 467
 468
 469
 470
 471
 472
 473
 474
 475
 476
 477
 478
 479
 480
 481
 482
 483
 484
 485
 486
 487
 488
 489
 490
 491
 492
 493
 494
 495
 496
 497
 498
 499
 500
 501
 502
 503
 504
 505
 506
 507
 508
 509
 510
 511
 512
 513
 514
 515
 516
 517
 518
 519
 520
 521
 522
 523
 524
 525

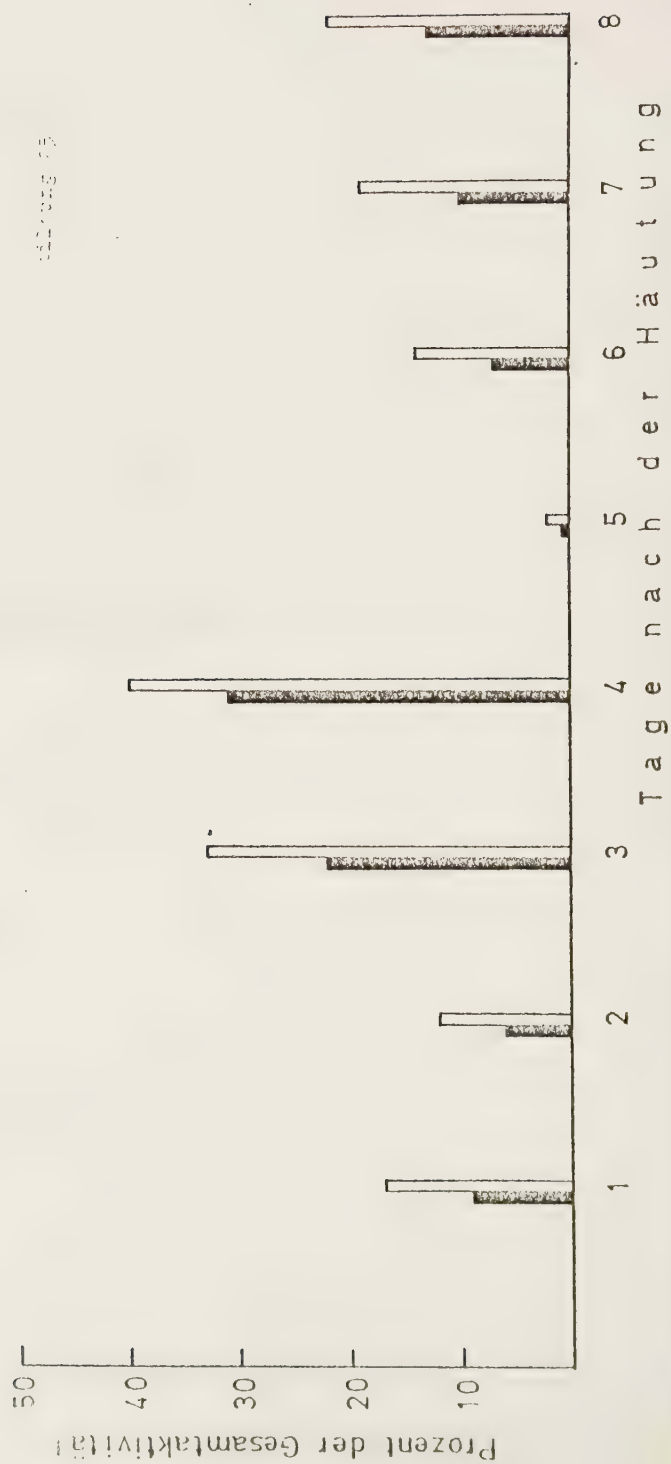
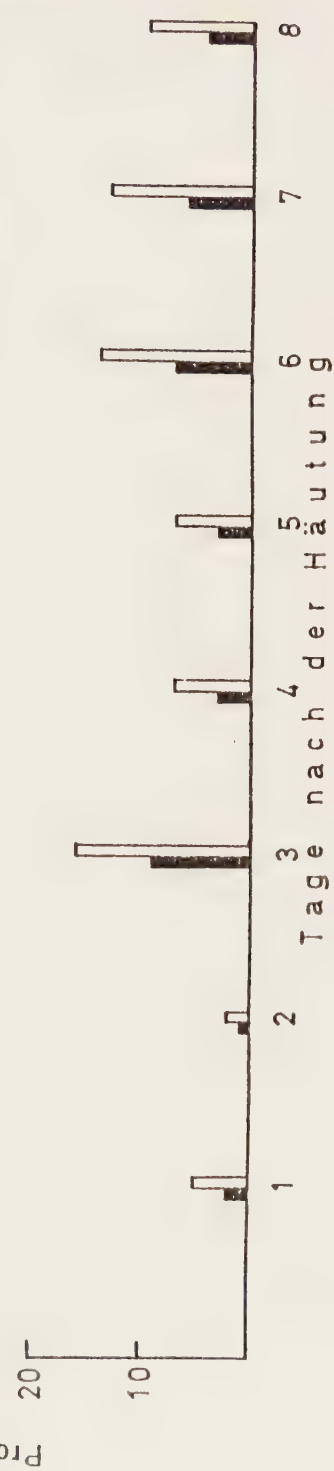


Abbildung 26



Abbildung 27



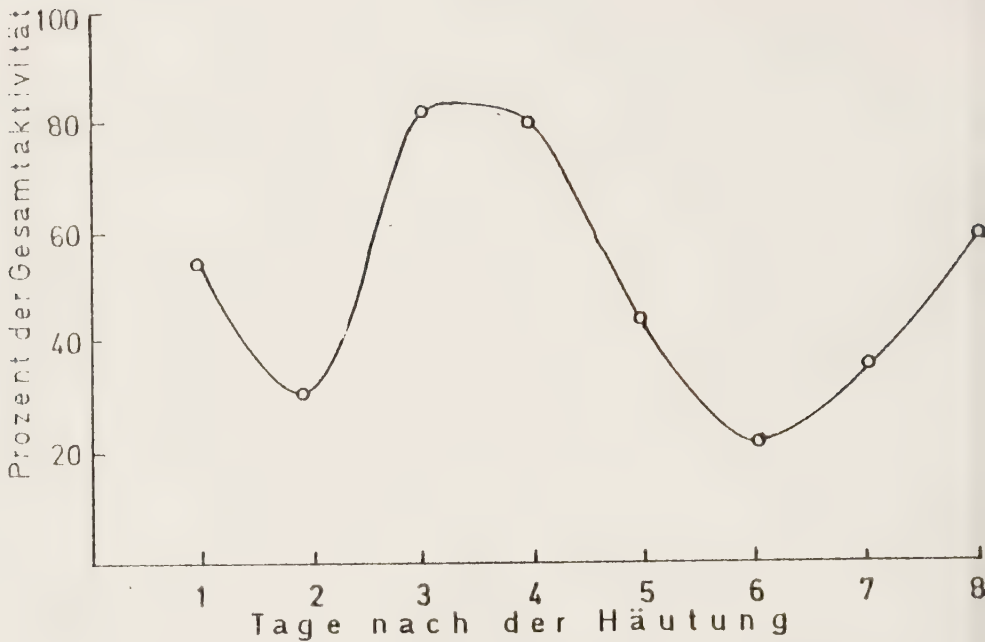


Abb. 23: Die Einzelwerte der Konzentrationen des Startzonematerials in den Inkubaten von Fettkörper, Malpighigefäßen, Darm und Oenocyten (Abb. 24-27, ausgefüllte Säulen) sind, für jeden Tag getrennt, dargestellt.

5. Bestimmung der Verteilung des Ecdysons und seiner Metaboliten in den Larven von *Tenebrio* nach der Injektion von α -Ecdyson in Abhängigkeit vom Alter und von der Inkubationszeit.

a) Verteilung der Radioaktivität im Darm, Fettkörper, Hämolymphe und im Restkörper.

Die Bestimmung der Gesamtradioaktivität im Darm, im zentralen Fettkörper und den Malpighigefäßen, in der Hämolymphe und im Restkörper nach einer Injektion von ^3H - α -Ecdyson sollte zunächst einen Überblick darüber schaffen, ob und in welchen Kompartimenten Ecdyson und seine Metaboliten gespeichert würden. Eine weitergehende Kompartimentierung wurde nicht vorgenommen, da bei der Präparation hierbei größere Verluste feststellbar waren. Die Bestimmung der Radioaktivität der

einzelnen Kompartimente erfolgte durch die Messung eines Aliquot der Methanolüberstände ihrer Homogenate. Die Ergebnisse dieser Versuche sollen zunächst am Beispiel von Larven erläutert werden, deren endogener Titer niedrig ist. Ihnen sollen dann die Befunde an Tieren mit hohem endogenem Titer und damit mit einem vergleichsweise höherem Auftreten des β -Ecdysons gegenübergestellt werden. (Vergl. Tab. 8 und Abb. 29, 30). Die injizierte Radioaktivität wird sehr schnell auf die untersuchten Kompartimente verteilt: So sind bereits nach 0,5 Stunden nur noch 22 % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität in der Hämolymphe vorhanden. Zu diesem Zeitpunkt können über 2/3 der Aktivität zu etwa gleichen Teilen im Darm und im Restkörper nachgewiesen werden. Die Aktivität im Fettkörper ist mit etwa 4 % vergleichsweise gering. Nach einer Stunde ist der Tritiumpool im Restkörper weitgehend leer (5 %). Dabei ging die Abnahme der Radioaktivität einher mit einer Zunahme der Radioaktivität des Fettkörpers (16 %), einer weiteren starken Zunahme im Darm und einer geringfügigen Abnahme im Blut. Zu dem nächsten untersuchten Zeitpunkt (2 Stunden) befindet sich die Radioaktivität fast ausschließlich im Darm (80 %). Hierbei zeigte es sich, daß der Anstieg im Fettkörper nur kurzfristig war. Jetzt beträgt die Aktivität nur noch 5 %. In der Hämolymphe hat die Radioaktivität weiter abgenommen und im Restkörper blieb sie gleichbleibend gering. Auch nach 4 Stunden hat sich diese Verteilung nur unwesentlich geändert. Der Vergleich der Verteilung der Radioaktivität in den vier Kompartimenten und ihrer Verteilung in der Zeit zeigt auch für den 5. Tag ähnliche Verhältnisse. Hervorzuheben ist aber das Verhalten des Restkörpers. Denn, im Gegensatz zum 1. Tag geht die Radioaktivität nicht sprunghaft, sondern nur langsam zurück: So sind nach 2 Stunden noch 16 % und nach 4 Stunden noch 11 % der insgesamt vorhandenen Aktivität in diesem Kompartiment enthalten.

Abb. 29/30: Verteilung der Gesamtaktivität innerhalb des Körpers der Larven, dargestellt in Abhängigkeit von der Zeit. Das Alter der Tiere betrug 1 Tag (Abb. 29) oder 5 Tage (Abb. 30). Darm (O), Hämolymphe (●), Fettkörper (†), Restkörper (Δ).

Abbildung 29

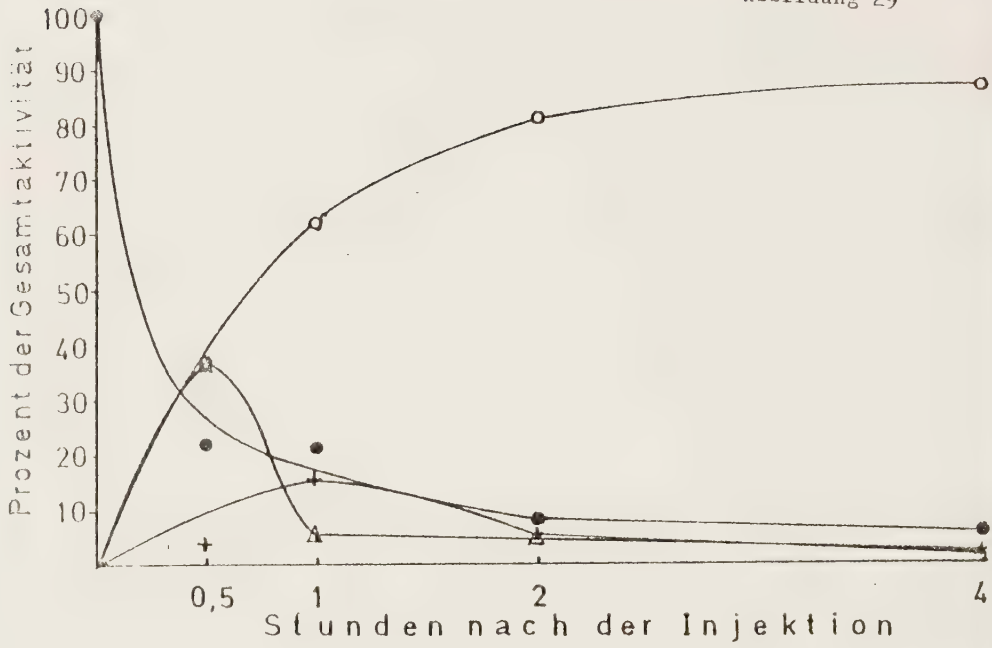


Abbildung 30

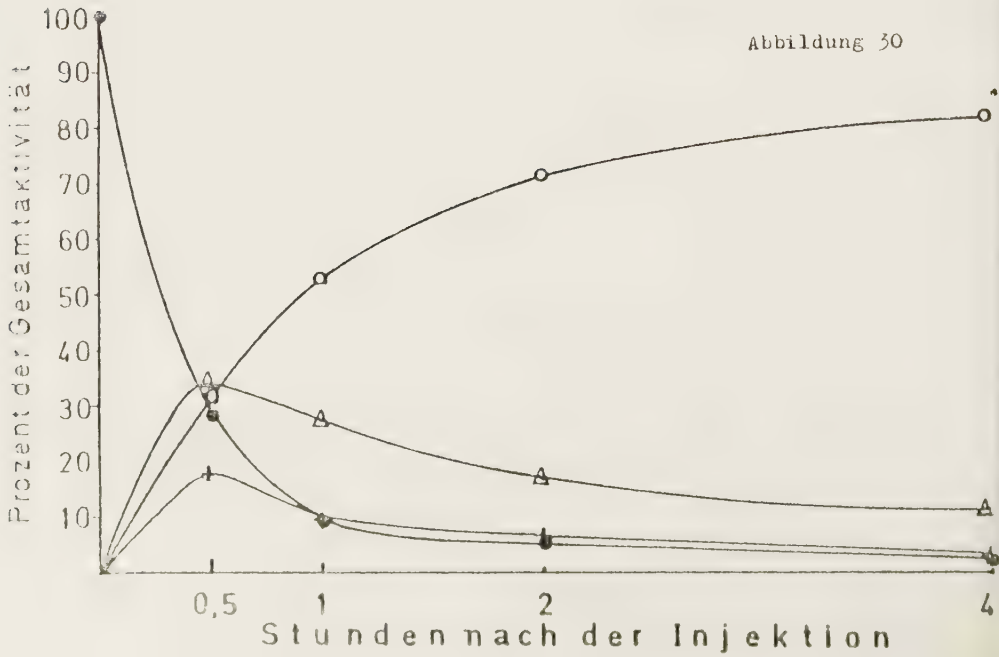


Table 6: Bestimmung der Injektion von α -Lactosäure in den Extrakt. Alter der Körper nach der Injektion auf die in den Extrakt enthaltene Menge. Alter der Körper nach der Injektion auf die in den Extrakt enthaltene Menge.

KNOWLEDGE

b) Vergleich der Radiochromatogramme

I. Hämolymphe (Abb. 31)

Das in die Hämolymphe injizierte α -Ecdyson stellt auch nach 1/2 Stunde noch den größten Anteil im Radiochromatogramm. Der wichtigste Metabolit ist zu diesem Zeitpunkt das β -Ecdyson mit einem Anteil von 25 %. Daneben findet sich auch bereits ein ansehnlicher Betrag (16 %) Startzonenmaterial.

Nach einer Stunde hat das β -Ecdyson sein Maximum erreicht: über 1/3 der gesamten Aktivität der Hämolymphe liegen in dieser Form vor. Der Anteil des α -Ecdysons ist stark zurückgegangen und die Konzentration des Startzonenmaterials hat stetig weiter zugenommen. Nach zwei Stunden ist der Peak des β -Ecdysons weitgehend verschwunden und das β -Ecdyson hat ein Niveau erreicht, das nur wenig über dem des α -Ecdysons liegt (etwa 10 %). Das Startzonenmaterial hat nach seiner linearen und raschen Zunahme seinen Scheitelpunkt erreicht (65 %) und bleibt bis zum letzten Meßpunkt (4 Stunden) auf diesem Niveau.

II. Fettkörper (Abb. 32)

Das über die Hämolymphe zum Fettkörper gelangende α -Ecdyson hauft sich dort nicht an. Offensichtlich wird das α -Ecdyson zugleich weitermetabolisiert zu Ecdysteron und darüber hinaus zu den stark polaren Verbindungen des Peaks I.

Nach 1/2 Stunde liegen etwa 40 % der Radioaktivität des Chromatogramms als Material des Peaks I vor und etwa 30 % als β -Ecdyson. Bereits nach einer Stunde ist der Anteil des β -Ecdysons auf 10 % zurückgegangen, auf einen Wert, der in dem betrachteten Zeitraum auch weiterhin beibehalten wird. Er liegt geringfügig über dem des α -Ecdysons. Der starke Abfall des β -Ecdysons ermöglicht eine entsprechende Zunahme des Startzonenmaterials. (auf einen Wert von etwa 60%)

Abb. 31 - 34: Radiochromatogramme der Extrakte von Hämolymphe (Abb. 31), Fettkörper (Abb. 32), Darm (Abb. 33) und Restkörper (Abb. 34). Das Gewebe stammte von 1 Tag alten Tieren. Die Ordinate gibt den Anteil einer Verbindung in % an, bezogen auf die Radioaktivität des Radiochromatogramms. α -Ecdyson (O), β -Ecdyson (Δ), Startzonenmaterial ($\bullet$).

Prozent der Gesamtaktivität

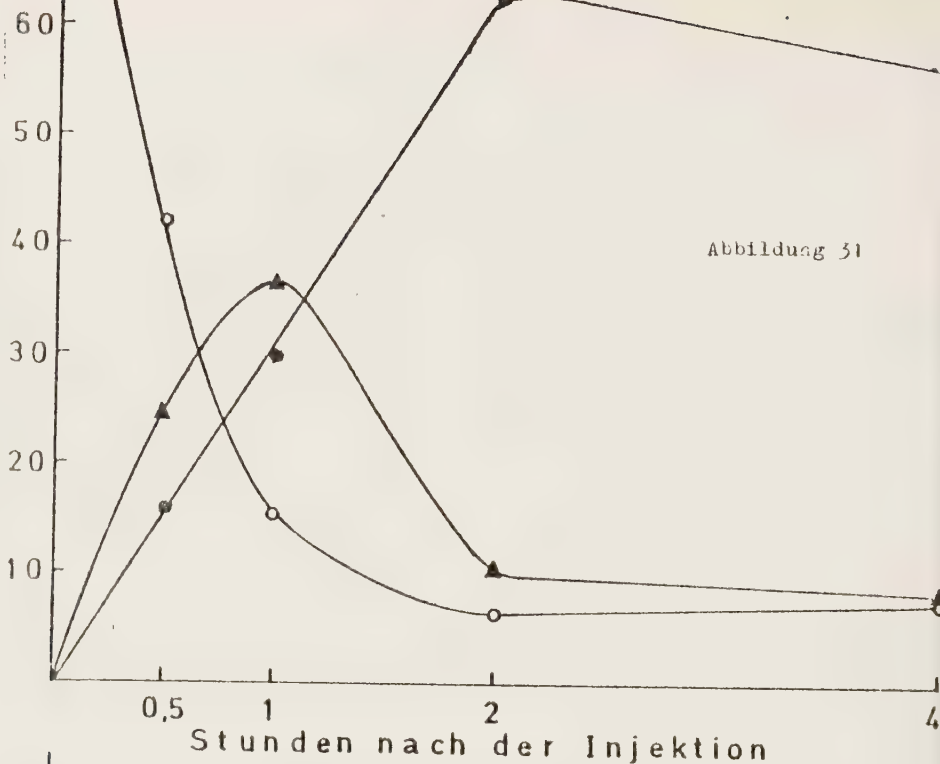


Abbildung 31

Prozent der Gesamtaktivität

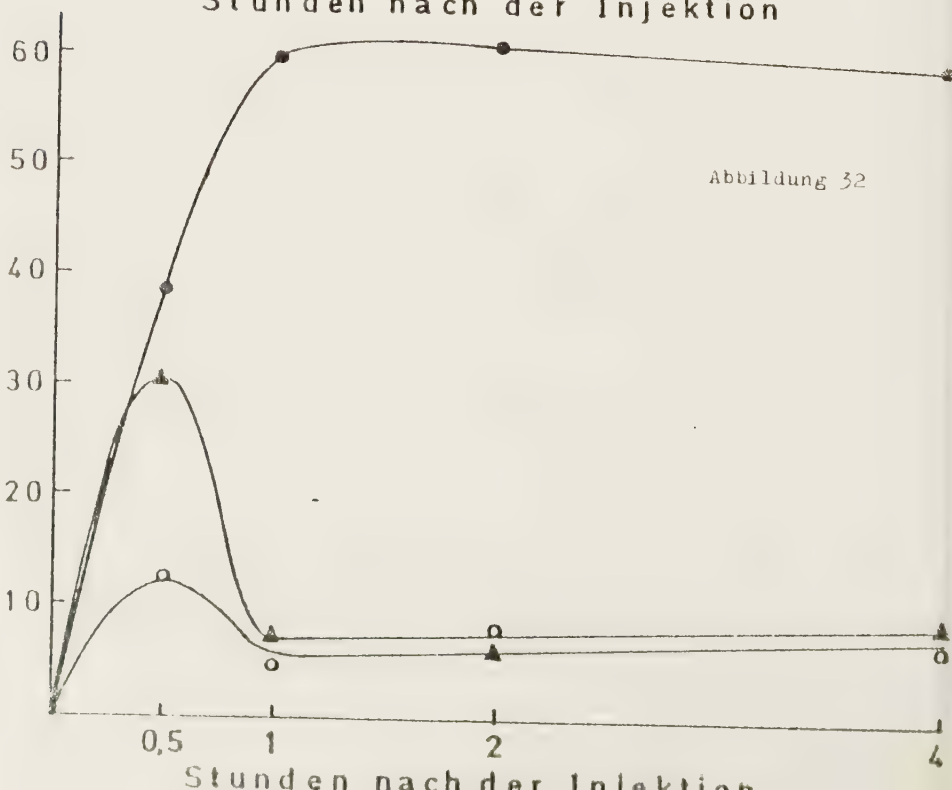


Abbildung 32

III. Restkörper (Abb. 33)

Die Konzentration der Metaboliten und ihre Verteilung in der Zeit zeigt im Restkörper ein ganz unterschiedliches Verhalten. Denn der Anteil des Startzonenmaterials ist weit geringer und der Anteil des α - und des β - Ecdysons entsprechend höher als bei den bisher betrachteten Kompartimenten.

Auch hier wird kurz nach der Injektion des Ecdysons ein Maximum der Konzentrationen von α - und β - Ecdyson durchlaufen. Fast $2/3$ der gesamten Aktivität liegt als eine dieser Verbindungen vor. Ihre Konzentrationen nehmen aber im weiteren zeitlichen Verlauf nur geringfügig ab. Nach 1 Stunde haben beide Werte ein Plateau erreicht, das bis zum letzten Meßpunkt nach 4 Stunden konstant bleibt.

Die Konzentration des inaktivierten Hormons, des Startzonenmaterials, nimmt nur langsam zu; nach $1/2$ Stunde liegen erst 15 % und nach 1 Stunde etwa 30 % der Radioaktivität der Chromatogramme in dieser Form vor. Auch bei länger inkubierten Larven ändert sich diese Konzentration kaum. Sie ist zu jedem Zeitpunkt niedriger als in den anderen Kompartimenten.

IV. Darm (Abb. 34)

Die Radioaktivität des Darms besteht bereits nach $1/2$ Stunde überwiegend aus der Konjugatfraktion. Zu diesem Zeitpunkt ist aber auch eine größere Menge α - Ecdysons ($>20\%$) und im geringen Umfang auch β - Ecdyson in den Darm ausgeschieden worden ($<10\%$). Beide Hormone haben damit ihren höchsten Wert erreicht. Er nimmt im weiteren Verlauf nur wenig ab. Die Konzentration des Startzonenmaterials steigt weiter an und erreicht nach 2 Stunden mit etwa 50 % den höchsten Wert.

Abbildung 33

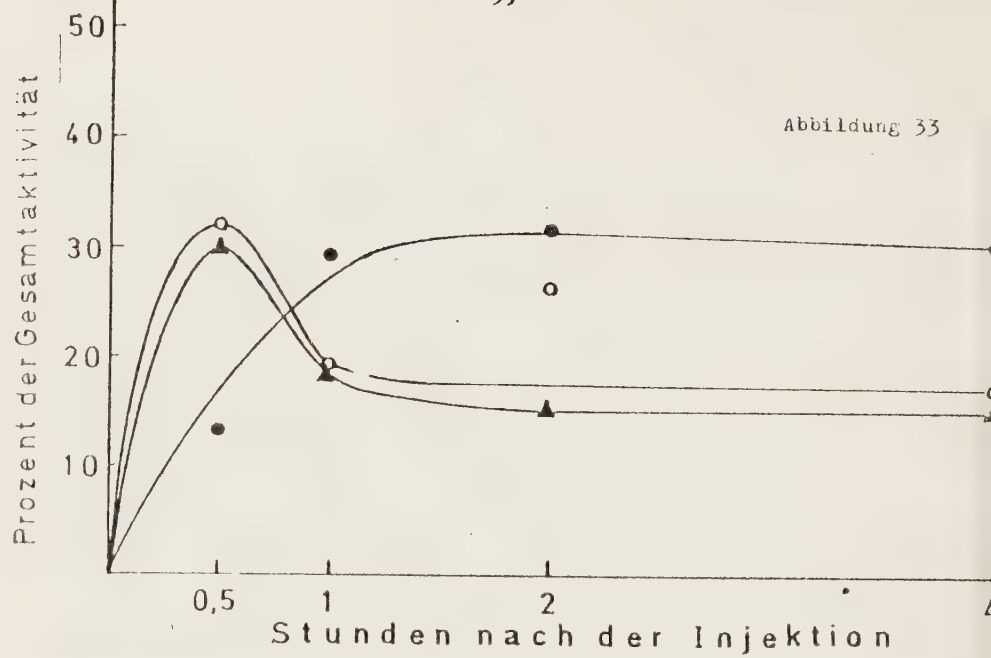
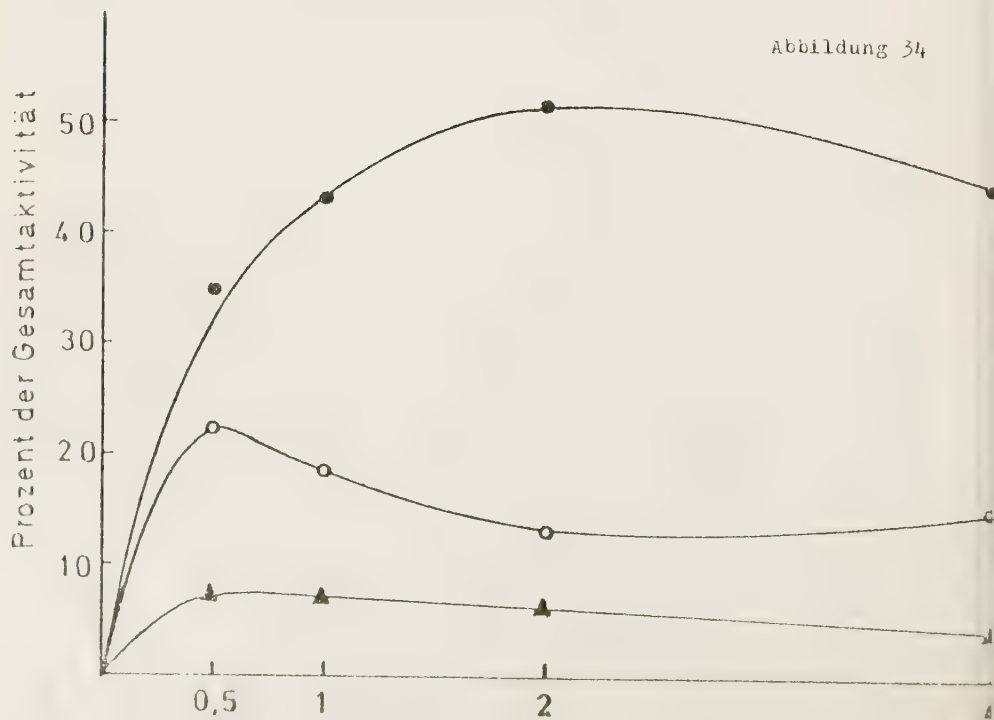


Abbildung 34



6. Verfüttern von ^3H - α - Ecdyson an die Larven von Tenebrio

a) Metabolisierung

^3H - α - Ecdyson wurde den Insekten in einer kleinen Menge zerriebener Haferflocken angeboten und an vier Larven verfüttert, die 24 Stunden gehungert hatten. Als das Futter größtenteils verbraucht war (nach einem Tag), wurde ihnen die Hämolymphe, der Fettkörper mit den Malpighigefäßen und der Darm entnommen. Diese drei Kompartimente und der Restkörper wurden jeweils in Methanol homogenisiert und wie beschrieben aufgearbeitet und ausgewertet.

Wie Abb. 35 zeigt, wird auch das mit der Nahrung aufgenommene α - Ecdyson metabolisiert. Im Radiochromatogramm der Darmextrakte ist der Peak des α - Ecdysons weitgehend verschwunden (nur noch etwa 2 % α - Ecdyson). Die Metaboliten des Ecdysons sind aber nicht die erwarteten, in den bisherigen Versuchen gefundenen, sondern zu über 50 % zwei stark apolare Verbindungen, deren R_f - Werte in der Höhe der Verbindung VIII und einer weiteren Verbindung IX liegen. Ob aber diese apolaren Metaboliten mit den Verbindungen VIII und IX identisch sind, ist unklar. (Vergl. Diskussion).

b) Aufnahme der markierten Substanzen in den Körper.

Der in den Körper gelangte Anteil der Radioaktivität beträgt etwa 13 %. In der Hämolymphe und im Fettkörper ist keine Aktivität feststellbar. Die ganze Radioaktivität befindet sich im Restkörper. Dominierend sind in dessen Extrakten ebenfalls die apolaren Metaboliten. Neben unverändert gebliebenem α - ecdyson enthalten sie aber noch β - Ecdyson, Startzonenmaterial und in Spuren Dehydro- und Hydroxyverbindungen des Ecdysons (Abb. 36). Die Metaboliten im Radiochromatogramm des Restkörpers könnten folgendermaßen geklärt werden: 1.) Die apolaren Metaboliten; durch ihre Resorption durch die Darmwand 2.) Ecdyson und seine Metaboliten; durch die Aufnahme von unverändertem α - Ecdyson in den Körper und die Metabolisierung im Fettgewebe und die anschließende Verteilung auf die Organe (Vergl. hierzu auch Diskussion)

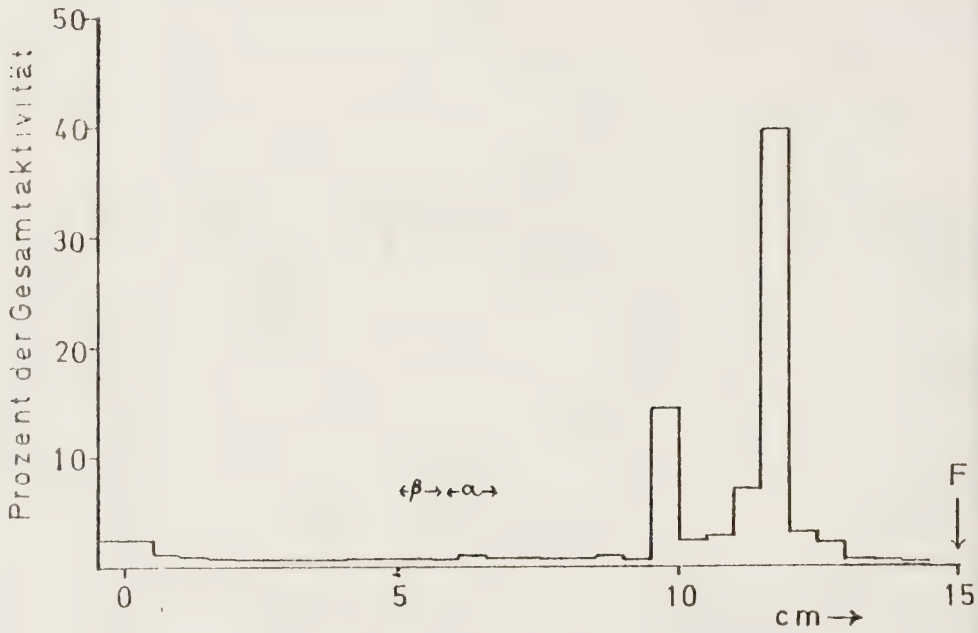


Abb. 55: Radiochromatogramm eines Darmextraktes aus 4 Tieren, denen β - α -Ecdyson verfüttert wurde. Die Prozentzahlen sind auf die Aktivität eines Chromatogramms bezogen

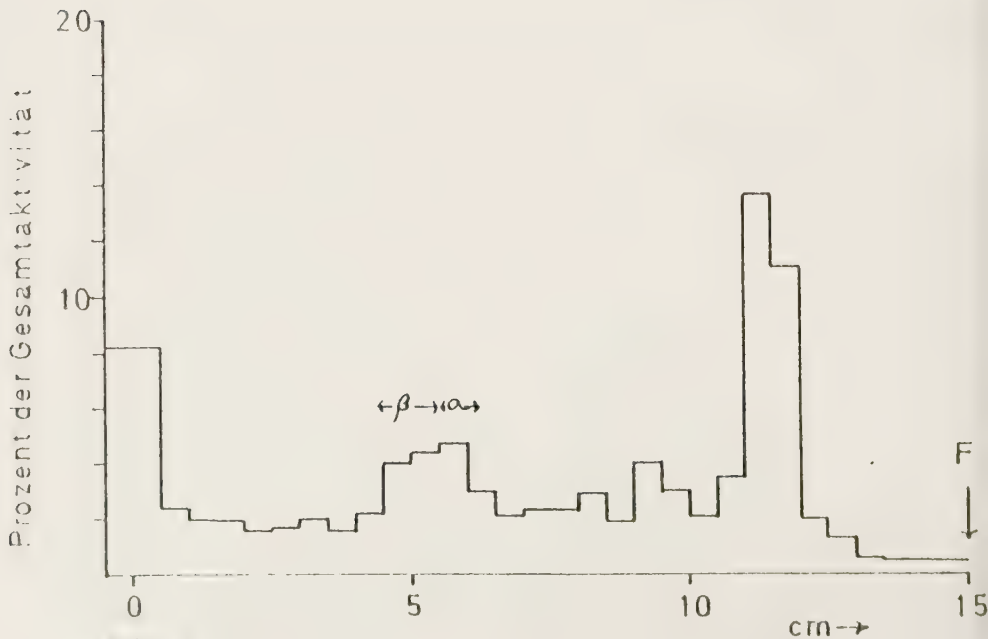


Abb. 56: Legende wie Abb. 55, jedoch für den Restkörper.

1. Metabolisierung des Ecdysons durch die Larven

Die Radiochromatogramme der Extrakte der Tenebriolarven zeigen eine Verteilung der Radioaktivität auf acht Peaks.

Ihre Anzahl und ihre relative Lage zueinander entsprechen den Befunden von Karlson und Koelmann (1972) bei *Galliphora vicina*. Allerdings konnte eine Anhäufung von 20-Hydroxy-Ecdyson oder von 3-Dehydro- α -Ecdyson (Lagueux et al. 1976) hier nicht beobachtet werden. Es wird deshalb angenommen, daß die Verbindungen II - IV und VII - VIII keine spezifische Funktion haben. Ihre Bedeutung besteht darin, das vorhandene Ecdyson rasch in eine biologisch unwirksame Form zu überführen. Es ist bekannt, daß durch Dehydrieren und durch Hydroxylieren des Ecdysons (die B-Ecdysonbildung, die hier ausgeklammert) das α -Ecdyson um das 10 bis 15 fache in seiner Aktivität vermindert wird (Thompson et al. 1976, Karlson et al. 1972). Die völlige Inaktivierung setzt erst 3 - 4 Stunden nach der Injektion von Ecdyson in einem Insekt ein, das für eine Beeinflussung des Titers von Bedeutung ist. Sie besteht in einer Konjugation der Ecdysone (bevorzugt der Verbindung II und III) mit Schwefelsäure und Glucuronsäure.

Die Hydroxylierung des injizierten α -Ecdysons zu B-Ecdyson erfolgt bei den Larven von *Tenebrio* sehr schnell. Das Maximum der B-Ecdysonkonzentration ist innerhalb 1 bis 2 Stunden erreicht. Die Geschwindigkeit und die Intensität dieser Konversion zeigen stadienspezifische Schwankungen. An den Tieren mit hohem endogenen Titer sind sie maximal und bei niedrigen Titer minimal (Abb. 5 und 6). Diese Korrelation wurde bereits bei *Bombyx mori* (Horiyama et al. 1970, Locusta (Goffmann et al. 1974), Aeshna (Schaller et al. 1975), Chortoneura (Lagueux et al. 1976) und *Galliphora* (Young, 1976) beschrieben. Wie ein Vergleich der Ergebnisse zeigt, wird B-Ecdyson bei *Tenebrio* relativ rasch

nicht metabolisiert (Abb. 6). Nach 4 Stunden ist der β -Ecdysonpeak weitgehend verschwunden. Dieser Befund ist unerwartet, da nach Gelbecque (1976) β -Ecdyson das dominierende Hormon für die Larven von *Tenebrio* ist, gestellt. Wie Abb. 11 zeigt, ist fast während des ganzen Inkubationszyklus α -Ecdyson nach 8 Stunden mehr α - als β -Ecdyson feststellbar.

Für die Regulation des Häutungshormonspiegels ist neben der Metabolisierung auch die Exkretion von Bedeutung (Goffmann et al. 1975). In den Faeces der *Tenebriolarven* wurden in den ersten Stunden der Inkubation vor allem α -Ecdyson, an einigen Tagen zu über 80 % angetroffen, daneben auch β -Ecdyson, zu etwa 10 %. Bei gleichzeitig hoher Exkretionsrate (Vergl. Abb. 8/9) hat die Exkretion von nicht metabolisiertem Ecdyson einen nicht zu unterschätzenden Einfluß auf die Inaktivierung. Am 5. Tag sind so nach einer Stunde die β -biologisch aktives Hormon entfernt. Nach nur vier Stunden folgt erst die Konjugatfraktion (Abb. 12). Nach acht Stunden beträgt ihr Anteil an diesem Tag 52 %, der der Ecdysonfraktion noch 24 %. Das bedeutet, daß etwa 15 % nicht metabolisiertes Hormon ausgeschieden wurde. Es läßt sich für die Larven eine Beziehung zwischen endogenen Titern und Exkretion von nicht metabolisiertem Ecdyson feststellen. An Tagen mit niedrigen Titern ist der Anteil der Ecdysonfraktion in den Faeces deutlich höher. Zusammen mit der an diesen Tagen beobachteten höheren Exkretionsrate wird damit noch ein zusätzlicher Regulationsmechanismus für die Einstellung des endogenen Hormontiters deutlich.

2. Metabolisierung des Ecdysons durch die Puppen

In den Radiochromatogrammen der Extrakte der Puppen von *Tenebrio molitor* sind die gleichen Metaboliten wie bei den Larven anzutreffen. Wie für die Larven beschriebene Abhängigkeit der Hydroxylierung und der Konjugatbildung vom endogenen Titer ist bei den Puppen besonders deutlich. (Abb. 13). Der Anstieg der β -Ecdysonkonzentration in den Extrakten geht einher mit einem Abfall von Peak I, und umgekehrt, die entsprechenden Werte graphisch dargestellt (Abb. 15), ergeben zwei spiegelbildlich verlaufende Kurven. Die 4 Stunden nach einer Injektion noch vorhandenen α -Ecdysonkonzentrationen zeigen während des Puppenstadiums keine Beziehung zum endogenen Titer. In den jüngeren Stadien sind zwar die Werte des α -Ecdysons höher als in den älteren (Vergl. Abb. 15), doch erfolgt die Abnahme der Konzentrationen fast linear. Bei Tieren mit hohem endogenem Titer ist, im Gegensatz zu den Larven, keine höhere α -Ecdysonkonzentration als bei Tieren mit niedrigem Titer festzustellen. Vielmehr ist ein solches Verhalten für das β -Ecdyson zu beobachten.

In der Tabelle 4 sind die Werte für zwei Stadien aufgeführt, von denen das eine (4. Stadium) für Puppen mit hohem und das andere (7. Stadium) für solche mit niedrigem Titer stellvertretend ist. Im Vergleich zu den Larven sind in beiden Stadien eine deutlich langsamere erfolgende Hydroxylierung und nach Erreichen eines Maximums eine langsamere Abnahme der β -Ecdysonkonzentration festzustellen. So ist nach 1 Stunde der β -Ecdysonpeak im 4. Stadium noch nicht einmal zur Hälfte ausgebildet, wird das Maximum erst nach etwa 4 Stunden erreicht, und beträgt die Konzentration nach 16 Stunden noch $1/3$ der insgesamt vorhandenen Aktivität.

In den Extrakten der Puppen des 7. Stadiums entspricht das Vorkommen und auch die jeweilige Konzentration des Startkonzentrates, in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion, den Verhältnissen bei den Larven. Bei den Puppen des 4. Stadiums ist aber eine vergleichsweise geringe Konzentration und eine nur langsame Zunahme dieser Produkte der Inaktivierung zu beobachten (Tab. 4). So sind nach 16 Stun-

den 40 % der injizierten Hormons inaktiviert. Bei den Larven mit hohem Titer laggen sind allein über die Ausscheidung etwa 40 % des Hormons einer biologischen Wirksamkeit entzogen.

Die unterschiedliche Inaktivierungsgeschwindigkeit bei hohem Titer zwischen Larven und Puppen wird verständlich, wenn man die Werte des endogenen Titers miteinander vergleicht (Delbecq 1975). Die für die Puppen gemessenen Werte übertreffen die der Larven um etwa das 5-fache. Daher muß auch, um die Einstellung eines höheren Titers zu ermöglichen, die Geschwindigkeit der Konjugatbildung vermindert sein - sofern die oödynonzythesserate nicht entsprechend erhöht ist.

4. Metabolisierung des oödysons durch die Imagines

Die Metabolisierungsprodukte des oödysons und ihr Auftreten in Abhängigkeit von der Zeit nach der Injektion unterscheiden sich laut von den Ergebnissen, die bei den Larvenstadien mit niedrigem Titer gefunden wurden. Dies steht auch im Einklang mit dem von Delbecq (1976) bestimmten, geringen Hormontiter.

10 Tage alte Tiere zeigen in ihrem Metabolitenmuster keinerlei geschlechtspezifische Unterschiede. Bei den 5 Tage alten Imagines dagegen sind solche zu erkennen. Denn bei den weiblichen Tieren ist ein in diesem Faße nicht angetroffenes oödyson von apoliren Metaboliten gefunden worden, ein hohes oödynonniveau und nur noch wenig oödyson. Dieses Versuchsergebnis bedarf allerdings noch einer Bestätigung, da dieses Experiment nur einmal durchgeführt werden konnte.

4. Metabolisierung des α - Ecdysons durch die Organe von Tenebrio-larven unter in vitro Bedingungen.

Die Resultate der Inkubationsversuche verschiedener Organe mit β - α - Ecdyson bestätigen die im ersten Teil beschriebenen Versuchsergebnisse. Auch in vitro erfolgt die Inaktivierung des Ecdysons überwiegend durch die Bildung von Estern. Die Hydrolyse dieser Konjugatfraktion mit Helicase, einem Gemisch aus β - Glucuronidase und Steroidsulfatase ist zu etwa 50 % erfolgreich und ergibt überwiegend die Verbindungen 2 und 3, daneben auch in geringem Umfang α - und β - Ecdyson. Somit verlaufen auch in vitro die gleichen Metaboliten mit denselben Verbindungen (H_2SO_4 und Glucuronsäure) konjugiert.

Neben der Bildung der Konjugate sind als weitere Abbaureaktionen die Dehydrierung an der C- 3 Position von α - und β - Ecdyson und die Bildung von drei polaren Verbindungen (II-IV) beobachtet worden. Die letztgenannten Verbindungen haben eine Polarität, die zwischen der des Startzonematerials und der des β - Ecdysons liegt. Über die Natur der Verbindungen ist wenig bekannt. Möglicherweise sind es Polyhydroxyprodukte des Ecdysons (z.B.: 26- Hydroxyecdyson, Thompson et al. 1967). 3- Dehydro- α - und β -ecdysone kommen unter in vitro Bedingungen in nur unbedeutenden Beträgen, teilweise nur in Spuren vor.

Die Konversion des α - Ecdysons zu β - Ecdyson erfolgt auch in vitro in signifikanten Beträgen. Neben dem Startzonematerial ist β - Ecdyson in den Extrakten aller Organe, bei denen die Inkubation erfolgreich war, der wichtigste Metabolit. Daneben sind, von Organ zu Organ differierend, auch nach 16 Stunden Inkubation noch Restbeträge des α - Ecdysons nachweisbar.

Von den in vitro untersuchten Organen (vergl. Tab. 7) vermögen alle, mit Ausnahme der Hämolymphe und des Integumentes, α - Ecdyson zu metabolisieren. Auch bei den bisher untersuchten Insekten (King, 1972; Manduca sexta; Feyereisen, 1970; Locusta migratoria; Schaller et al., 1970; Aeshna

genheit; Russell et al., 1977; *Calliphora erythrocephala*)
 dass für die beiden Organe keine oder nur geringe Umwand-
 lungen beobachtet werden. Feyerherzen et al. konnten in den
 Inkubaten der Epidermis (diese mit Oenocyten!) keine Meta-
 bolisierung des α - Ecdysons feststellen. Ebenfalls negativ
 verlief die Inkubation zellfreier Hämolymphe, positiv da-
 gegen die Inkubation von Hämocyten: In Sooren waren nämlich
 L- Ecdyson und 3- Dehydroecdysen nachweisbar. Keine Meta-
 bolisierung ist für die Hämolymphe von *Pantopa leobachet*
 worden. Einen positiven Befund ergab die Inkubation der Kör-
 perwand, nämlich die Bildung von B- Ecdyson. Unklar ist hier
 allerdings, inwieweit nicht andere Gewebe der "Körperwand"
 hierbei eine Rolle spielten. Die Epidermis von *Aeshna* ver-
 mochte α - Ecdyson nicht zu metabolisieren. Russell et al.
 dagegen fanden nach der Inkubation der Epidermis in gerin-
 gen Mengen Konjugate und 3- Dehydro- B- ecdyson. Bei der
 Inkubation von Prothoraxdrüsen mit ^3H - α - Ecdyson konnten
 bei den bisher untersuchten Insekten (*Manduca*: King 1972;
 Loensta: Lagueux 1976) keine Metaboliten des Ecdysons fest-
 gestellt werden. Dagegen wurden bei *Tenebrio* (Tab. 7) so-
 wohl Startzonennmaterial als auch B- Ecdyson, wenn auch nur
 in geringem Maße, gefunden. Eine Bildung von Konjugaten
 durch die Prothoraxdrüsen wurde bereits von Romer et al.
 (1974) berichtet. Aus ^{14}C - Cholesterin vermochten die Drü-
 sen in vitro α - Ecdyson zu bilden. Dieses wurde aber, so-
 fern nicht zusätzlich kaltes α - Ecdyson zugegeben wurde, zu
 polaren Metaboliten umgewandelt. B- Ecdyson fanden die Auto-
 ren nur wenig. Möglicherweise lässt sich aber das Vorhanden-
 sein von L- Ecdyson nach der Inkubation der Prothorax-
 drüsen mit α - Ecdyson auf eine Verunreinigung des Ansatzes
 durch Spuren von Fettgewebe zurückführen. Denn das Fett-
 gewebe stellte sich als ein für die Metabolisierung des
 α - Ecdysons außerordentlich aktives Gewebe heraus. Es er-
 zielte von allen untersuchten Organen die höchsten Umsatz-
 raten. Das zugegebene α - Ecdyson wurde nahezu völlig meta-
 bolisiert (Umsatz bis zu 99 %).

5. Bestimmung der Verteilung des Ecdyson und seiner Metaboliten in den Larven von *Tenebrio* nach einer Injektion von α -Ecdyson

Nach der Injektion von α -Ecdyson wurde zunächst die Verteilung der Gesamtradioaktivität innerhalb der Larve untersucht. Es zeigte sich (Abb. 29 u. 30), daß das markierte Hormon sehr schnell an die Gewebe abgegeben wird: Bereits nach einer halben Stunde ist es in der Hämolymphe nur noch zu etwa 20 % nachweisbar. Dabei hat sich die Radioaktivität überwiegend im Darm und im Restkörper angehauft und nur in geringem Umfang im Fettkörper. Während nun die Radioaktivität im Darm im weiteren zeitlichen Verlauf stetig ansteigt und nach 4 Stunden einen Wert von etwa 80 % erreicht hat, nimmt sie in den anderen Kompartimenten ab. In Abhängigkeit zum Alter der Larven ergibt sich für die Abnahme im Restkörper ein unterschiedliches Verhalten. Bei Tieren, mit hohem endogenen Titer nimmt die Aktivität nur langsam ab, während sie bei Larven mit niedrigem Titer sprunghaft abnimmt. Dieses Verhalten des Restkörpers erinnert an die Befunde von Feyereisen (1976) an *Locusta migratoria*. Der Anteil der Aktivität des Restkörpers ist dort aber höher und ihre Abnahme bei hohem Titer ist geringer als bei *Tenebrio* beobachtet.

Bereits nach einer halben Stunde liegen fast 60 % der Aktivität eines Extraktes der Hämolymphe nicht mehr unverändert als α -Ecdyson vor, sondern als dessen Metaboliten. Es sind bereits alle aus den in vivo Experimenten bekannten Metaboliten nachweisbar. Da aus den in vitro Versuchen bekannt ist, daß die Hämolymphe α -Ecdyson nicht zu metabolisieren vermag, zeigt dieser Befund, daß das injizierte Ecdyson außerordentlich rasch von den Geweben aufgenommen, metabolisiert und in die Hämolymphe wieder abgegeben wurde.

In den in vitro Experimenten erwies sich der Fettkörper als das zentrale Organ der 6-20-Hydroxylierung und der Konjugatbildung. Diese Funktion ist auch in vivo zu erkennen. Denn in seinen Extrakten liegt die Radioaktivität nach 1/2 Stunde fast zu 90 % als Metabolisierungsprodukte

des α -Ecdyson, vor und zeigt somit einen Wert, der von keinem anderen Organ erreicht wird. Das metabolisierte Hormon wird nicht im Gewebe gespeichert, sondern rasch an die Hämolymphe abgegeben.

Der Mittkörper ist auch bei *Calliphora erythrocephala* (Karlson et al. 1964; Heinrich und Hoffmeister 1970) das wichtigste Organ zur Metabolisierung des Ecdyson. Bei *Calliphora* hat er aber noch zusätzlich die Funktion der Speicherung des inaktivierten Hormons. Dies erklärt sich mit dem physiologischen Zustand der untersuchten Larven. Denn mit einem Alter von 6 Tagen standen die kurz vor der Verpuppung, und zu diesem Zeitpunkt ist die Exkretion minimal. Bei *Tenebrio* liegen die Verhältnisse insofern anders, als keine Vorpuppen untersucht wurden und bei den jüngeren Larven die Bildung der Ausscheidungsprodukte (mit Ausnahme des ersten Tages) in sehr effizienter Weise erfolgt.

Entsprechend der hohen Exkretionsrate, die zu beobachten ist, findet sich bei *Tenebrio* schon nach kurzer Zeit ein großer Anteil der Gesamtaktivität im Darm. Es werden sowohl unverändert gebliebenes α -Ecdyson, β -Ecdyson, als auch in hohen Mengen Startzonematerial im Darm angetroffen (Vergl. Abb. 54). Für α - und β -Ecdyson ist die größte Zunahme direkt nach der Injektion zu verzeichnen. Bereits nach 1/2 Stunde ist für beide Verbindungen die maximale Konzentration erreicht. In den nächsten Stunden verändern sich die Werte nur wenig. Das Startzonematerial dagegen hat erst nach zwei Stunden seinen Scheitelwert erreicht und nimmt zwischen 2 - 4 Stunden geringfügig ab. Das Metabolitenmuster entspricht dem der Hämolymphe, auch in seinem zeitlichen Auftreten. Offensichtlich nimmt die Darmwand weder α -Ecdyson noch seine Metaboliten bevorzugt auf.

Das Vorkommen von α - und β -Ecdyson im Darmtrakt war nicht unerwartet. Denn bereits bei den extrakten der Exkremente konnte diese Fähigkeit, biologisch aktives Hormon abzugeben, angedeutet, aufgezeigt werden.

In dieser Zusammenhang sei darauf verwiesen, daß auch in umgekehrter Richtung, also zwischen Darm und Hämolymphe, ein Stoffaustausch möglich ist. Darauf deuten die Experimente mit verbluteter Ecdyson hin.

Unter Berücksichtigung der stetigen Zunahme der Radioaktivität im Darm und der damit verbundenen Abnahme in den anderen Kompartimenten, ist es also erkennbar, daß in den länger inkubierten Extrakten ganzer Larven das erhaltene Metabolitenmuster fast gänzlich von dem des Darminhaltes bestimmt wird.

Der Vergleich der Radiochromatogramme, die für die einzelnen Kompartimente in den Abbildungen 31 - 34 dargestellt sind, ergibt, daß die Extrakte des Restkörpers eine andere Verteilung der Metaboliten aufweisen. Die Konzentration des Peaks I nimmt innerhalb des betrachteten Zeitraums vergleichsweise langsam zu und erreicht nicht das Niveau wie in den anderen Kompartimenten. Dies geht einher mit starken α - und β -Ecdysonkonzentrationszunahme und einer verzögerten Abgabe dieser Verbindungen an die Hämolymphe.

Stellt man diesen Befund in Beziehung zu der Verteilung der Gesamtaktivität, so ergibt sich folgender Sachverhalt:

α - und β -Ecdyson reichern sich altersunabhängig im Restkörper kurz nach der Injektion an. Ihre Konzentrationen durchlaufen nach 1/2 Stunde ein Maximum. Dieses Verhalten entspricht dem Auftreten der Ecdysone in der Hämolymphe.

In Abhängigkeit vom Alter wird das Ecdyson verschieden schnell abgegeben. An den Tagen mit hohem endogenem Titer nimmt die Konzentration des α - und des β -Ecdysons nur langsam ab. Nach einer Stunde sind noch etwa 12% und nach 2 Stunden etwa 7% der insgesamt noch vorliegenden Aktivität als α - und β -Ecdyson im Restkörper enthalten. (Verl. Tab. 8).

An den Tagen mit niedrigem Titer werden beide Ecdysone rasch abgegeben. Nach einer Stunde beträgt ihre Konzentration nur noch etwa 2% (Tabelle 8).

Dieses Verhalten läßt sich für die jungen Larven noch mit einem ungehinderten Stoffaustausch zwischen Restkörper und Hämolymphe erklären.

Die verzögerte Abgabe der Ecdysone bei den älteren Tieren ist möglicherweise auf das Vorhandensein von Proteinrezeptoren zurückzuführen, die zu diesem Zeitpunkt in einer akti-

von Konformation vorliegen. Diese Interpretation würde die Einklang mit den von Triger (1977) beschriebenen Modell des Wirkungsmechanismus der Steroidhormone der Wirbeltiere sein.

Zunachst gelangen die Hormone zunächst wahrscheinlich durch freie Diffusion in die Zellen. Im Zytoplasma von Targetorzellen verbinden sie sich zu einem aktiven Komplex, der dann in den Nucleus transloziert wird um hier mit der DNA in Wechselwirkung tritt.

Die Darstellung solcher Rezeptoren ist bisher bei einigen Insekten gelungen. Hoffman et al. fanden bei *Locusta* die Glukokortikorezeptoren in der Epidermis, im Fettkörper und zwar in der Muskulatur (zitiert nach Mittlehead 1976).

Spezifische Rezeptoren für α -Medyson waren in den Speicheldrüsen nachweisbar. In den Speicheldrüsen von *Arosomella* identifizierten Beckert und Lüscher Bindungsproteine mit hoher Affinität zu Medyson (zitiert nach Mittlehead 1976).

Obwohl bereits auch negative Ergebnisse vorliegen (Correll et al. 1972; Thamer et al. 1972), bedarf die Frage, ob Rezeptoren vorhanden sind, noch weiterer Klärungen (Vergl. Karlson et al. 1975). Nach der Theorie von Karlson et al. (1975) wirkt das Medyson über eine Blockierung des genetischen Materials. Injektionen von Medyson führen nämlich zu der Ausbildung von Puffs in den Speicheldrüsen von *Thironomus* (Sleever und Karlson 1960). Die Puffbildung ist bereits 15 - 30 Minuten nach der Injektion von 10^{-6} g Medyson zu beobachten.

Der Mechanismus in Frage, insoweit die Hormontesterer bezieht die Anreicherung der Medysone für eine Interaktion mit dem genetischen Material an. Der in der Fettkörper vorhandene Medysonanteil erscheint zwar gering im Vergleich zu der Konzentration des Körpers, doch ist er hoch, da man ihn in Beziehung zu den in den anderen Kompartimenten noch erhalten Medysonen setzt. Die Konzentration von α - und von β -Medyson ist im Fettkörper 1 Stunde

nach Injektion 2 mal und nach 2 Stunden fast 10 mal höher als in der Leber und im Fettkörper noch 10 mal höher (Tab. 3). Auch hier ist es auch zu erwarten, daß die Hormontesterer bezieht die Anreicherung der Medysone für eine Interaktion mit dem genetischen Material an.

6. Verfütterung von β - α -Ecdyson an die Larven

Die Nahrung von *Tenebrio* besteht - wie auch der deutsche Name „Mehlkäfer“, bzw. „Mehlwurm“ zum Ausdruck bringt - aus Getreideprodukten. Da, soweit bisher bekannt, die Poaceae keine Phytoecdysone enthalten (Vergl. Einleitung), besteht für die Larven keine Notwendigkeit, einen Inaktivierungsmechanismus gegen Phytoecdysone zu entwickeln, um eine Interferenz mit dem hormonellen Gleichgewicht zu verhindern.

Wie die Versuchsergebnisse zeigen, liegt dennoch das Ecdyson nahezu völlig metabolisiert in den Radiochromatogrammen des Darms vor. Die Verteilung der Metaboliten zeigt ein völlig anderes Muster als es bisher beobachtet wurde. Startzonematerial ist hier ein fast unbedeutender Metabolit, β -Ecdyson und die anderen bisher beobachteten Peaks übertreffen nicht oder kaum die Aktivität des Backgrounds. Fast die ganze Aktivität ist auf zwei apolare Verbindungen vereinigt, die Laufeigenschaften dieser Produkte entsprechen zwar denen der Verbindung VIII und einer nur in Säuren- und deshalb nicht beachteten Verbindung IX, doch ob sie mit ihnen identisch sind, muß bezweifelt werden. Denn sie sind weder in vivo noch in vitro in nennenswerten Beträgen aufgetreten. Möglicherweise ist in dem sauren Milieu des Darms ein Säureabbau des Ecdysons erfolgt (Abspaltung der 18-OH Gruppe und Ausbildung eines $\Delta^{7,14(15)}$ -Dien-on-(6)-System und anschließende Umlagerung in das $\Delta^{3,14}$ -Dien-on-6 : (Karlson et al. 1965). Ein Abbau durch die Mikroorganismen im Darm erscheint als Erklärung wenig wahrscheinlich, da die Inkubation des Darminhaltes dieses Metabolitenmutter nicht ergab. (Vergl. Tab. 6).

In den bisherigen Versuchen in denen Ecdyson verfüttert wurde, sind stets die Metaboliten beschrieben worden, wie sie auch nach der Injektion gefunden wurden (Koriyama et al. 1970; Feyereisen 1976). Feyereisen beobachtete zwar nach einer Applikation das verstärkte Auftreten einer Verbindung „R“, doch ist ihre Konzentration im Vergleich zu den anderen Metaboliten unbedeutend.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Moriyama (1970) und von Beyersien (1976) kann bei den Larven von *Tenebrio molitor* verfüttertes *Edyson* in den Körpern gelangen. Bei der Organverteilung der Radioaktivität ergibt sich ein Bild, das der Verteilung nach einer Injektion entspricht. Die außerhalb des Darms vorkommende Aktivität ist im wesentlichen auf das Kompartiment Hestkörper beschränkt. Spuren waren in der Hämolymphe und im Fettkörper nachweisbar, doch waren ihre Aktivitäten jeweils so gering, daß in den Chromatogrammen die Metaboliten nicht identifiziert werden konnten (nur wenig über dem Background). Das Metabolitenmuster des Hestkörpers besteht sowohl aus den Metaboliten, die nach oraler Applikation im Darm nachgewiesen wurden, als auch aus solchen, die sie nach einer Injektion auftraten. Es kann also angenommen werden, daß geringe Mengen α -*Edyson* in den Körper gelangen, dort wie beschrieben metabolisiert und auf die Kompartimente verteilt wurden. Der größte Teil der Aktivität dürfte aber bereits in metabolisierter Form aufgenommen worden sein (als polare Verbindung).

E. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Metabolismus von 3β - α -Ecdyson während eines Häutungszyklus der Larven von *Tenebrio molitor* untersucht. Die Metabolisierung erfolgt durch Hydroxylierung, Dehydrierung und Konjugation. Insgesamt wurden, α - und β -Ecdyson eingeschlossen, acht Metaboliten gefunden. Das Material von Peak I konnte zu 56% enzymatisch gespalten werden. Die hydrolysierten Anteile bestehen aus Estern der Schwefelsäure und der Glucuronsäure mit den Verbindungen II und III, in geringem Umfang auch mit α -Ecdyson und 3β -hydroecdyson. Die Konzentrationen des injizierten α -Ecdysons nehmen in den extrakten unterschiedlich rasch ab, in Abhängigkeit vom physiologischen Zustand der Tiere. Bei Larven mit niedrigem endogenem Titer liegen 1 Stunde nach einer Injektion etwa 50 % und bei Tieren mit hohem Titer nur noch etwa 25 % unverändert als α -Ecdyson vor. Die Halbwertszeiten betragen somit zwischen 0,3 und 1,7 Stunden.

Der erste in größeren Beträgen fassbare Metabolit ist das β -Ecdyson. Die β -Ecdyskonzentrationen durchlaufen etwa 1 Stunde nach der Injektion ein Maximum. Die Größe des jeweils gemessenen Wertes hängt vom Alter der Tiere ab. Die höchsten Konzentrationen sind an den Tagen mit hohem endogenem Titer feststellbar und die niedrigsten an den Tagen mit niedrigem Titer. Die nach einer Stunde aufgestellten Konzentrationskurven von α - und β -Ecdyson verlaufen also weitgehend spiegelbildlich zueinander.

Nach etwa 4 Stunden ist bei allen Stadien der β -Ecdyson-peak weitgehend verschwunden. β -Ecdyson ist zwar stets noch vorhanden, doch sind die Konzentrationen niedrig, so daß in die extrakten das α -Ecdyson als biologisch aktives Hormon dominiert.

Das Startzonematerial ist bereits 1 Stunde nach der Injektion anzutreffen. Die größte Konzentrationszunahme erfolgt aber erst zwischen 3 und 4 Stunden. Die erreichte Konzentration wird in dem beobachteten Zeitraum beibehalten. Bei den Larven, deren Titer niedrig ist, sind die Konzentrationen dieser Verbindungen am höchsten, bei Larven mit hohem Titer sind sie deutlich geringer.

Bei niedrigem Titer ist die Exkretion von großer Bedeutung. Nach acht Stunden sind vom 2. bis zum 5. und vom 7. bis zum 8. Tag zwischen 50 - 80 % der injizierten Aktivität in den Exkrementen nachweisbar. Am Anfang des Häutungszyklus und am 6. Tag (Maximum des endogenen Titers) werden nur 3, bzw. 30 % der Aktivität ausgeschieden. Die unerwartet niedrige Exkretionsrate am 1. Tag wird aber durch vermehrte Metabolisierung und Verbrennung im Tier richtig kompensiert. Eine Korrelation zwischen dem Auftreten dieser Verbindungen und dem physiologischen Zustand der Larven konnte gefunden werden. Auch Tieren mit niedrigem Titer ist der Anteil der α -Molysone (α -HL) höher als zur Zeit des Molysommaximums.

Nach der Injektion wird 3 H- α -Molysom von Puppen und Imagines in gleicher Weise in von der Larve retiniert. In den Extrakten von Puppen der verschiedenen Stadien nehmen die Konzentrationen von α -Molysom rasch ab, ohne dabei die von den Larven her bekannte Beziehung zum endogenen Titer zu zeigen. Die Konzentrationen des α -Molysoms, die 4 Stunden nach der Injektion vorgefunden wurden, nehmen innerhalb des Puppenstadiums fast linear und nur in geringem Maße ab.

Für die Konzentrationen des β -Molysoms und des Materials von Mark I lassen sich dieselben Abhängigkeiten vom endogenen Titer feststellen wie bei den Larven. Also ein hohes β -Molysomniveau bei Puppen mit hohem Titer, niedrigere Werte bei geringem Titer, und für das Mark I-Material gelten die gleichen Verhältnisse. In der graphischen Darstellung verlaufen somit die beiden Kurven nahezu parallel zueinander.

In den Puppenstadien mit hohem Hormontiter findet eine Weitermetabolisierung des β -Molysoms nur in geringem Maße statt. 16 Stunden nach der Injektion von α -Molysom liegen noch 1/3 der Gesamtaktivität als β -Molysom vor, und die Konzentration der Inaktivierungsprodukte ist mit einem Wert von weniger als 10 % sehr niedrig.

Die Geschwindigkeit der Inaktivierung bei Tieren mit einem niedrigen Titer entspricht derjenigen von Larven, deren Hormontiter am Maximum liegt.

Bei den 0 Tage alten Imagines waren keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Metabolisierungsrate zu erkennen. Die 4 Stunden nach einer Injektion hergestellten Extrakte zeigten mit den Larven vergleichbare Metabolitenmuster: es dominiert das Startzonematerial, die E- Ecdysonkonzentration ist relativ gering, und das α - Ecdyson ist das in der höheren Konzentration vorkommende der biologisch wirksamen Hormone. Unterschiede im Metabolitenmuster zwischen männlichen und weiblichen Tieren sind dagegen bei den 5 Tage alten Imagines festzustellen. Bei den Weibchen ist das Vorkommen der apolaren Verbindungen II und VIII signifikant (15 %), das α - Ecdyson ist nahezu völlig metabolisiert (4 %) und die Konzentration des E- Ecdysons ist sehr hoch (20 %).

Von den in vitro untersuchten Organen (Fettkörper, Darm, Genocyten, Integument, Hämolymphe, Prothoraxdrüse, Malpighigefäße, Muskulatur) vermochten mit Ausnahme des Integumentes und der Hämolymphe alle α - Ecdyson zu metabolisieren. Dabei wurden die gleichen Metaboliten gebildet, wie sie in vivo anzutreffen waren. Das Vorkommen der apolaren Verbindungen war aber in vitro nur in Spuren zu beobachten.

Von den einzelnen Organen, die von Tieren gleichen Alters stammen, jeweils ungesetzte Menge an α - Ecdyson war sehr unterschiedlich: Als wenig aktiv (etwa 50 % Umsatz) erwiesen sich die Muskulatur und die Prothoraxdrüsen. Eine größere Aktivität zeigten die Malpighigefäße (etwa 40 % Umsatz), der Darm (45 %) und die Genocyten (45 %). Mit einer Umsatzrate von 95 % war aber das Fettgewebe das für die Metabolisierung des α - Ecdysons befähigteste Organ.

Eine Untersuchung der Dynamik der Metabolisierung durch den Fettkörper ergab, daß α - Ecdyson rasch von den Geweben aufgenommen und sofort metabolisiert wird. Die Metaboliten des Ecdysons werden direkt in Medium abgegeben. Nur etwa 10 % der gesamten Aktivität waren im Gewebe enthalten. Bereits geringe Mengen von Fettgewebe vermögen α - Ecdyson zu einem hohen Prozentsatz zu metabolisieren. $3 \cdot 10^{-4}$ g, dies sind etwa

1/10 des gesamten Fettkörpers einer Larve, konnten etwa 60 % inkubierten Hormons metabolisieren.

Die Aktivität des Fettkörpers hängt vom Alter der Ausgangstiere ab. Sie ist am höchsten, wenn das Gewebe von Tieren stammte, deren endogener Titer niedrig ist, und sie ist am niedrigsten, wenn der Titer hoch ist.

Auch die Konzentrationen des Startzonematerials und des β -Ecdysons in den Radiochromatogrammen lassen eine Beziehung zum endogenem Titer erkennen. Stammte das Gewebe von Tieren, deren Titer hoch ist, so überwiegt β -Ecdyson, stammte es von Tieren mit niedrigem Titer, so überwiegt das Startzonematerial.

Die graphische Darstellung der Konzentrationen von β -Ecdyson und von Startzonematerial, die in den Inkubaten der Fettgewebe jeweils gefunden wurden, ergibt Kurven, die mit den beiden Konzentration Kurven der *in vivo* Experimente vergleichbar sind. Deshalb wird angenommen, daß auch *in vivo* das Fettgewebe für die gefundenen Metabolitenmuster bestimmend waren. Hilfige Gefäße, Leber und Genocyten sind wahrscheinlich ebenfalls immer beteiligt, doch ihre Potenz kommt erst dann zum Tragen, wenn die Aktivität des Fettkörpers zurückgeht.

Nach einer Injektion von ^3H - α -Ecdyson in die Larven wird das markierte Hormon sehr schnell an die Gewebe abgegeben: Bereits nach 1/2 Stunde ist es in der Hämolymphe nur noch zu etwa 20 % nachweisbar. Es hat sich die Radioaktivität überwiegend im Darm und im Fettkörper angereicht und nur in geringen Mengen im Fettkörper.

Während die Radioaktivität mit zunehmender Applikationszeit im Darm stetig weiter ansteigt, nimmt sie in den anderen Kompartimenten ab. In Abhängigkeit vom Alter der Larven ergibt sich für die Konzentration im Fettkörper ein unterschiedliches Verhalten. Wenn bei Tieren mit hohem endogenem Titer nimmt die Aktivität nur langsam ab, während sie bei Larven mit niedrigem Titer sprunghaft abnimmt.

Der Vergleich der Radiochromatogramme ergibt, daß die Extrakte des Fettkörpers eine andere Verteilung der Metaboliten aufweisen. Die Konzentration des Peak I nimmt innerhalb des betrachteten Zeitraums vergleichsweise langsam zu und erreicht nicht das

Niveau wie in den anderen Kompartimenten. Dies geht einher mit einer starken α - und β -Ecdysonkonzentrationszunahme.

α - und β -Ecdyson reichern sich altersunabhängig im Restkörper kurz nach der Injektion an. Ihre Konzentrationen durchlaufen nach 1/2 Stunde ein Maximum. In Abhängigkeit vom Alter der Tiere wird das Ecdyson verschieden schnell abgegeben. An den Tagen mit hohem endogenem Titer nimmt die Konzentration des α - und des β -Ecdysons nur langsam ab. Nach einer Stunde sind noch etwa 12 % und nach 2 Stunden etwa 7 % der insgesamt noch vorliegenden Aktivität als α - und β -Ecdyson im Restkörper enthalten. An den Tagen mit niedrigem Titer dagegen werden beide Ecdysone rasch abgegeben. Nach einer Stunde beträgt ihre Konzentration nur noch etwa 2%.

Die Larven vermögen mit der Nahrung aufgenommenes α -Ecdyson zu metabolisieren. Jedoch die Metaboliten, Startzonematerial und β -Ecdyson, die nach der Injektion dominierten, sind nur in geringen Konzentrationen zu beobachten. Fast die gesamte Aktivität ist auf zwei stark apolare Verbindungen vereinigt, deren Identität noch unklar ist.

Die Darmwand ist für das verfütterte Ecdyson und seine Metaboliten permeabel. Denn etwa 13 % der insgesamt wiedergefundenen Aktivität konnte im Restkörper (dies ist der Körper nach Entnahme von Häm, Hämolymphe, Malpighi-Geleßen und Fettkörper) und 40 % der Radioaktivität in der Hämolymphe und im Fettgewebe nachgewiesen werden.

Auch in den Extrakten des Restkörpers überwiegen die apolaren Metaboliten. Das Vorkommen von β -Ecdyson, α -Ecdyson und des Startzonematerials ist jedoch weit höher. Es wird deshalb angenommen, daß sowohl apolare Metaboliten als auch nicht metabolisiertes α -Ecdyson in den Körper gelangten. Das α -Ecdyson konnte dann in gleicher Weise wie nach einer Injektion metabolisiert und auch im Körper verteilt werden.

B. DIFFERENTIAL PHYSIOLOGY

- CHEN, EDELRICH J., zitiert nach MATHIASO D. (1976): Ecdysone binding across the chine. Nature, 264, 703 - 704.
- COLOMBAN G., CHEN E., CHEN EDELRICH J.P., and DE BACQ H. (1976): Présence d'ecdysones chez un insect adulte: la reine de Termite. C. R. Acad. Sci, Paris (D). 282, 885 - 888.
- COOPER D.A., and LARSEN F. (1974) In vitro secretion of α -ecdysone by prothoracic glands of a Hemimetabolous insect, *Leucophaea maderae* (Blattaria) (1). J. exp. Zool. 189, 413 - 419.
- COOPER W. (1952): Changes in titer of ecdysone in *Bombix mori* during metamorphosis. Science 115, 452.
- DEFFERT A., JARLSON P. (1954): Über die Isolierung eines Metamorphose-Hormons der Insekten in kristallisierter Form. Z. Naturforsch. 9b, 339 - 391.
- DELL L., CHENGBAN P. (1970): Distribution and metabolism of α -ecdysone in pupae of the silkworm *Antheraea polyphemus*. Biol. Bull. 131, 115 - 123.
- DEO H., SACHAKI S., OTSUKI T., IIZUKAWA H., MIYAMOTO H., HIRAKAWA I., and ARUKI H. (1974) Biosynthesis of α -ecdysone by prothoracic glands in vitro. Science 181, 529 - 530.
- DESHAYES R., GILBERT I.R., and ROSE J.F.S. (1970): Isolation of deoxyecdysone, deoxyecdysone, and α -ecdysone from the termite *Reticulitermes flavipes*. Chem. Comm. 1217 - 1218.
- DEWILDE P., CHEN EDELRICH J., STRECHER I., YOUNG J.L. (1975): Apparent requirement of two hormones, α - and β -ecdysone for molting induction in insects. Dev. Biol. 31, 47 - 50.
- DEWILDE P. and KADISH P. (1960) Induktion von Puffveränderungen in den Speicheldrüsen von *Chironomus tentans* durch Ecdysone. Z. Naturforsch. 15, 625 - 626.
- DELACHAMBRE 1973 zitiert nach DELBECQUE J.P. (1975)
- DELBECQUE J.P. (1975) Troux d'ecdysones et cycle de mue au cours de la métamorphose de *Gnecbrio mellitor*. Thèse, Dijon.
- DEWILDE P., and DEWILDE P., J. DEWILDE H., FALLOU J., and DEWILDE J. (1958) Molting hormones of a crab during ecdysis. Gen. Comp. Endocrinol. 1, 111.

- FEYERHERSEN R., JOLY H., HOFFMANN J.A. (1976): Régulation de la conversion de l'ecdysone en ecdystéron chez *Locusta migratoria* L.: rôle des corpora allata. C.R. Acad. Sci., Paris (D) 282, 901 - 904.
- FEYERHERSEN R., LAGURUX M. und HOFFMANN J.A. (1976): Dynamics of ecdysone metabolism after ingestion and injection in *Locusta migratoria*. Gen. Comp. Endocrinol. 29, 319 - 327.
- FUKUDA S. (1943): Hormonal control of moulting and pupation in the silkworm. Proc. Imp. Acad. 16, 417 - 420.
- FUKUDA S. (1944): The hormonal mechanism of larval moulting and metamorphosis in the silkworm. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, Sect. 4, 6, 477 - 532.
- GALBRAITH R.H., BORN D.H.S., MIDDLETON E.J., JACKNEY R.J. (1968): Structure of deoxycrustecdysone, a second crustacean moulting hormone. Chem. Commun. 83 - 85.
- GALBRAITH R.H., BORN D.H.S., MIDDLETON E.J., JACKNEY R.J., THOLSON J.A. (1971): The biosynthesis of crustecdysone in the blowfly *Calliphora stygia*. Chem. Commun. 179 - 180.
- GALBRAITH R.H., BORN D.H.S., MIDDLETON E.J., JACKNEY R.J., THOLSON J.A. (1972): Side-chain hydroxylation in the biosynthesis of B-ecdysone (20-hydroxy-ecdysone) in the blowfly *Calliphora stygia*. Experientia 28, 264 - 265.
- GALBRAITH R.H., BORN D.H.S., MIDDLETON E.J., JACKNEY R.J., THOLSON J.A., MILDAL J.B., HARTFEL W. (1969): The catabolism of crustecdysone in the blowfly *Calliphora stygia*. Chem. Commun. 1134 - 1135.
- GRUBER H., STURZENEGGER J. (1971): Über eine Synthese von Ecdyson-²H und Ecdysteron-³H aus Cholesterin-³H in geschürten Abdomina von *Manestra brassicae*-Raupen. Experientia 27, 1475 - 1476.
- GRUBER H. und HARTSCH H. (1976) Synthesis of ecdysone-¹⁴C and ecdysterons-¹⁴C from cholesterol-¹⁴C in cockroaches (*Periplaneta americana*) without molting glands. Experientia 32, 468.

- LEHR, H. (1977): Brutung von Insekten ohne Leihungsdrüse: Befunde mit Larven von *Periplaneta americana*. *Experientia* 33, 225 - 230.
- OLIVER, L. I., LING, D. S. (1975): Physiology of growth and development: endocrine aspects. In "The physiology of insects". ed. by Morris Rockstein. Vol. 1, 259 - 368.
- GOEHL, T. A., GILLES, T. L. I., TASH, J. (1972): The uptake and conversion of α -ecdysone by the pupal tissues of *Hyalophora cecropia*. *Insect Biochem.* 2, 94 - 106.
- ROEDERER, A. H., O'COLLER, J. D., FUCHS, E. S., SAGE, E., SCHLAGER, D. A. and LOEH, L. K. (1975): The ovary as a source of α -ecdysone in a adult mosquito. *Proc. nat. Acad. Sci. USA*, 72, 3295 - 3299.
- IMAOHARA K., OHNISHI E. (1974): Changes in endysone titre during pupal-adult development in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Ins. Phys.* 20, 2375 - 2384.
- HEINKE H. G., HOFFHEITZER H. (1970): Bildung von Hormonglykosen als Inaktivierungsmechanismus bei *Calliphora erythrocephala*. *Z. Naturforsch.* 25 b, 358 - 361.
- AKINO H., OHIZUMI Y. und TAKEMOTO T. (1975): Steroid metabolism in *Bombyx mori*, I. Metabolism of ponasterone A and ecdysterone in *Bombyx mori*. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 356, 209 - 214.
- ROCKS P., JAGER A., KERB U., WIECHEFF R. (1966): Synthetische Steroide mit Brutungshormonaktivität. *Angew. Chem.* 78, 699 - 681.
- HOFFMANN J. A., KOOLMANN J. (1974 a): Prothoracic glands in the regulation of ecdysone titres and metabolic fate of injected labelled ecdysone in *Locusta migratoria*. *J. Ins. Phys.* 20, 1595 - 1601.
- HOFFMANN J. A., KOOLMANN J., KARLSON P., JOLY P. (1974 b): Telling hormone titer and metabolic fate of injected ecdysone during the fifth larval instar and in adults of *Locusta migratoria* (orthoptera). *Gen. Comp. Endocrinol.* 22, 90 - 97.

- HOFFMANN et al. (1976) Zitiert nach Whitehead D. : Ecdysone binding across the Rhine. *Nature* 264, 703 - 704.
- KRÄFELSTER H., GRUTZEMACHER H.F. (1966): Zur Chemie des Ecdysterons. *Tetrahedron Lett.* 33, 4017 - 4033.
- KRÄFELSTER H., RUFER C., AMMON H. (1965): Ausscheidung von Ecdyson bei Insekten. *Z. Naturforschg.* 20 b, 130 - 133.
- HORN D.H.S. (1971): The Ecdysones. In „Naturally Occurring Insecticides“, 333 - 459.
- HORN D.H.S., MIDDLETON E.J., WUNDERLICH J.A., HAMPSHIRE F. (1966): Identity of the molting hormones of insects and crustaceans. *Chem. Commun.* 339 - 341.
- HSIAO T.H., HSIAO C. und DE WILDE J. (1976): Molting hormone titer changes and their significance during development of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *J. Insect Physiol.* 15, 1257 - 1261.
- HUBER R., EOPPE W. (1965): Zur Chemie des Ecdysons VII. Die Kristall- und Molekülstrukturanalyse des Insektenverpuppungshormons Ecdyson mit der automatisierten Faltmolekülmethode. *Chem. Ber.* 98, 2403 - 2424.
- I. AI S., TOYODATO T., SAKAI E., SATO Y., FUJIOKA S., FURATA E., and SOTO H. (1969) *Chem. Pharm. Bull.* 17, 335.
- KAPLANIS J.N., THOMPSON M.J., ROBERTS W.E., and LINDQUIST E.L. (1972) *Steroids* 20, 621.
- KAPLANIS J.N., ROBERTS W.E., THOMPSON M.J. and DUTKY S.R. (1976): The molting hormones from the embryonated egg of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.). *Steroids* 27, 675 - 679.
- KARLSON P. (1956): Biochemical studies on insect hormones. *Vitam. Horm. (New York)* 14, 227 - 266.
- KARLSON P. (1966): Ecdyson, das Häutungshormon der Insekten. *Naturwissenschaften* 53, 445 - 453.
- KARLSON P. (1970): Terpenoids in insects. In *Biochem. Soc. Symp.* 22, 145 - 156.
- KARLSON P., BODE C. (1969): Die Inaktivierung des Ecdysons bei der Schweißfliege *Calliphora erythrocephala* Meign. *J. Insect Physiol.* 15, 111 - 118.

- KARLSON P., BUGANY H., DOPP H., HOYER G.A. (1972): 3- dehydroecdysone, ein Stoffwechselprodukt des Ecdysons bei der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala* Meign. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 353, 1610 - 1614.
- KARLSON P., SCHNEIDER E., and SEKERIS C.E. (1975) Intracellular mechanism of Hormone action. Comp. Biochem. (Ed. by Florkin M. and Stoltz H.) 25, 1 - 63.
- KARLSON P., KOOLMAN J. (1973): On the metabolic fate of ecdysone and 3- dehydroecdysone in *Calliphora vicina*. Insect. Biochem. 3, 409 - 417.
- KARLSON P., SEKERIS C.E., und HAURER R. (1964): Wirkungsmechanismus der Hormone I. Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 335, 100 - 106.
- KERB U., ROCKS P., WIECHERT R., FURLENEIER A., FURST A., LANGHANN A., WALDVOGEL G. (1966): Die Synthese des Ecdysons. Tetrahedron Lett. 13, 1387 - 1391.
- KIMURA S. (1974): Relationship between hormon titres and RNA and Protein synthesis when the change to the pupal programme occurs in the silkworm *Bombyx mori*. J. Ins. Phys. 20, 887 - 895.
- KING D.S., STODAL J.B. (1969): Conversion of α - ecdysone to B- ecdysone by crustaceans and insects. Nature 221, 955 - 956.
- KING D.S. (1972): Ecdysone metabolism in insects. Am. Zoologist 12, 345 - 346.
- KING D.S. (1972): Steroidogenesis, metabolism and action of steroids. Gen. comp. Endocrin. Suppl. 3, 221 - 227.
- KING D.S., BOLLENBACHER E.E., BORST D.W., VADECKIS W.V., O' CONNOR J.D., ITTYCHERIAN P.I. and GILBERT L.I. (1974): The secretion of α - ecdysone by the prothoracic glands of *Andrena sexta* in vitro. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 71, 792 - 796.
- KING D.S. and FAMES E.P. (1974): The secretion and metabolism of α - ecdysone by cockroach (*Leucopaea maderae*) tissues in vitro. Gen. comp. 15, 147 - 154.

- KING D., and SCHROEDER P. (1973) unveröffentlichte Information.
In: The Physiology of Insecta. Vol 1, 250 - 370.
- KOOL ANN J., HOFFMANN J.A., KARLSON P. (1973): Sulphatesters
as inactivation of ecdysone in *Locusta migratoria*. Hoppe-
Seyler's Z. Physiol. Chem. 354, 1043 - 1048.
- LACK R.J. und HAPF G.H. (1976) Neuroendocrine control of molting
cycle in mealworms: bioassay of molting hormone. J. Insect
Physiol. 22, 1123 - 1125.
- LAMIEUX M., MIRN E., DE REGGI M., et HOFFMANN J.A. (1976):
Taux de ecdysteroïdes et développement ovarien chez les fe-
melles adultes de *Locusta migratoria*. C. R. Acad. Sci. Paris
(D). 282, 1187 - 1190.
- LAGUEUX H., PEARSON J.E., und HOFFMANN J.A. (1976): Ecdysone
metabolism endogenous molting hormone titre during larval-
pupal development in *Choristoneura fumiferana*. J. Insect
Physiol. 22: 2257 - 2262.
- KORIYAMA H., MAKANISHI K., KING D.S., OKAUCHI T., SIDGAL J.B.,
HAFFEND W. (1970): On the origin and metabolic fate of
 α - ecdysone in insects. Gen. Comp. Endocrinol. 15, 80 - 87.
- MUETTE M. (1969) Parasitology 59, 365.
- MAKANISHI K., KORIYAMA H., OKAUCHI T., FUJIOKA S., KORIYAMA H.
(1972): Biosynthesis of α - and β - ecdysones cholesterol
outside the prothoracic gland in *Bombyx mori*. Science 176,
51 - 52.
- OTSMI T., FILERMAN R.D., WILLIAMS C.H. (1968): Dynamic of
ecdysone secretion and action in the fleshfly *Sarcophaga*
peregrina. Biol. Bull. 155, 322 - 354.
- OTSMI T., FILERMAN R.D., WILLIAMS C.H. (1968): Dynamics of
ecdysone secretion and action in the fleshfly *Sarcophaga*
peregrina. Biol. Bull. 155, 322 - 354.
- FIEBIGER H. (1948): Zur Frage der Bildungsorgane des Häutungs-
wirkstoffes bei Schmetterlingen. Naturwiss. 25, 94 - 95.

- MAJUMDAR G., DOLAN K.A., FRIEDMAN S., and FRIEDMAN R. (1972) *Comp. Biochem. Phys.* 41, 67.
- ROSE S.H. (1971): Ecdysones. In "aspects of terpenoid chemistry and biochemistry" (ed. Goodwin), 181 - 222.
- ROTHGIE J., CALLENS J.E., EVERSON J.A., and FRIEDMAN R. (1971): Steroid metabolism in insects. *A. Rev. Ent.* 16, 55 - 72.
- ROHDE F. (1971 a): Häutungshormone in den Öcnocyten des Fehlfalter. *Verh. Naturwiss.* 58, 371 - 379.
- ROHDE F. (1971 b): Die Prothoraxdrüsen der Larve von *Tenebrio molitor* L. (Tenebrionidae, Coleoptera) und ihre Veränderungen während eines Häutungszyklus. *Z. Zellforsch.* 122, 425 - 455.
- ROHDE F. (1973): molting hormone content in prothoracic glands and oenocytes of *Tenebrio molitor* within a molting cycle. *Experientia* 29, 1417 - 1418.
- ROHDE F. (1975): Morphologie und Ultrastruktur der larvalen Öcnocyten von *Tenebrio molitor* L. (Insecta, Coleoptera) bei Larve, Puppe und Imago. *Z. Morph. Tiere* 80, 1 - 40.
- ROHDE F. (1977): Geschlechtsspezifische Unterschiede im Häutungshormon - Titer bei adulten Grillen. *Naturwissenschaft.* 64, 42.
- ROHDE F., EMMERICH H., NOWOCKA A. (1974): Biosynthesis of molting hormones in isolated prothoracic glands and Oenocytes of *Tenebrio molitor* in vitro. *J. Insect. Phys.* 20, 1975 - 1987.
- ROSE S.H. and PRICE G.H. (1977): Metabolism of E-cdysone during the larval and puparial stage of the blowfly *Calliphora erythrocephala*. *Insect Biochem.* 7, 197 - 202.
- SHALLER F., ROEFMANN J.A. und KOELLER J. (1975): Métabolisme de l'Ecdysone chez *Aeshna cyanea* (Insecte, Odonate). Résultats d'injections d' α -ecdysone radioactive à des animaux normaux et à des larves au cycle de mue bloqué. *C. R. Acad. Sci., Paris (S)* 230, 1815 - 1816.
- SHALLER F. und ROEFMANN J.A. (1976): Métabolisme de l' α -ecdysone in vivo et in vitro chez *Aeshna cyanea*. In: *Actualités sur les hormones d'invertébrés*. S. 33 - 401.

- SHAYYA E. (1967): The significance of the fluctuating ecdysone titer in insects. *Am. Soc. Zool.* 7, 756 - 757.
- SHAYYA E. (1969): Der Ecdysontiter während der Insektenentwicklung, VI. Untersuchungen über die Verteilung des Ecdysons in verschiedenen Geweben von *Callipora erythrocephala* und über seine biologische Halbwertszeit. *Z. Naturforschg.* 24 b, 718 - 721.
- SHAYYA E., FALCON P. (1965 a): Der Ecdysontiter während der Insektenentwicklung, II. Die postembryonale Entwicklung der Schmeißfliege *Calliphora erythrocephala* Meig. *J. Insect Phys.* 11, 65 - 69.
- SHAYYA E., ARLEO P. (1965 b): Der Ecdysontiter während der Insektenentwicklung, IV. Die Entwicklung der Lepidopteren *Boobyx mori* L. und *Cerura vicina* L. *Development. Biol.* 11, 424 - 432.
- SIDAL J.B., CROSS A.D., FRIED J.H. (1966): Synthetic studies on insect hormones, II. The synthesis of ecdysone. *J. Am. Chem. Soc.* 88, 862 - 863.
- STUDIGER G., and WILHIG A. (1975): Biosynthesis of α - and β -ecdysone in isolated abdomes of *Musca domestica*. *J. Insect Physiol.* 21, 1793 - 1798.
- SVOCODA J.A., KAPLANIS J.N., ROBBINS W.E., and THOMPSON M.J. (1975): Recent development in insect steroid metabolism. *Ann. Rev. entomol.* 20, 205 - 220.
- TAKEUCHI T., OGURA S., NISHIMOTO N. and HOFFMEISTER H. (1967): Steroide mit Häutungshormon-Aktivität aus Tieren und Pflanzen. *Z. Naturforschg.* 22 b, 681 - 682.
- THAYER G., KARLSON P. (1972): Nachweis der Proteinbindung von Ecdyson bei der Schmeißfliege Meig. *Calliphora erythrocephala*. *Z. Naturforschg.* 27 b, 1191 - 1195.
- THOMPSON M.J., KAPLANIS J.N., ROBBINS W.E., BUTT J.R., and NIGG H.M. (1974) 3-Epi-20 hydroxyecdysone From meconium of the Tobacco hornworm. *Steroids* 24, 359 - 366.

- ROBERTSON J.A., KAPLANIS J.N., ROBINSON W.L., YAMAMOTO K.T.
(1967): 20, 20-dihydroxyecdysone, a new steroid with molting hormone activity from the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (Johannson). Chem. Commun. 13, 650 - 655.
- ROBERTSON J.A., YAMAMOTO J.A., KAPLANIS J.N., ROBINSON W.L.
(1972): Metabolic pathways of steroids in insects. Proc. R. Soc. Lond. B. 180, 203 - 221.
- ROBINSON W.L. (1977) Steroidhormone. Biosynthese, Stoffwechsel, Wirkung.
- SEIBERTE C. (1975): Die Abbaugeschwindigkeit von exogen zugeführtem β -Ecdyson bei *Tenebrio molitor* L. während eines Häutungszyklus. Unveröffentlichte Diplomarbeit, Mainz.
- SHAW J. and JOHNSON F. (1977) Metabolism of ^3H - α -ecdysone in *Cryllus bimaculatus* during the eight larval instar. J. Insect Physiol. 23, 545 - 549.
- SHAW J. (1970): Control of molting in an insect. Nature 228, 580 - 581.
- SHAW J., ROBINSON W.L., COOPER T.W. (1971): Biosynthesis of insect molting hormones in isolated ring glands and whole larvae of *Calliphora*. J. Insect Phys. 17, 2317 - 2326.
- SHAW J. (1976 a): The metabolism of ^3H -molting hormone in *Calliphora erythrocephala* at the mature larval and white puparial stages. Insect Biochem. 6, 1 - 12.
- SHAW J. (1976 b): The metabolism of ^3H -molting hormone in *Calliphora erythrocephala* during larval development. J. Insect Physiol. 22, 153 - 155.

LEBENS LAUF

Am 24.4.1943 wurde ich als Sohn des Postamtmanns Nikolaus Weinheimer und seiner Ehefrau Elisabeth, geborene Engelmann, in Niederheisdorf geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1954-1958 in Koblenz. Ostern 1958 wechselte ich auf das dortige Görresgymnasium über, an dem ich im Sommer 1967 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Sommer 1967 bis zu Weihnachten 1968 leistete ich meinen Wehrdienst ab.

Zum Sommersemester 1969 immatrikulierte ich mich an der Johannes Gutenberg Universität, Mainz, für das Fach Biologie, mit dem Studienziel Diplombiologe zu werden. Die Diplomvorprüfung legte ich im Juni 1971 ab (in den Fächern: Zoologie, Botanik, Physik, Chemie). Die Diplomhauptprüfung erfolgte im April 1975 (in den Fächern: Zoologie, Botanik, Genetik, Chemie). Die Diplomarbeit, mit dem Thema "Abbaugeschwindigkeit von exogen zugeführten B-Scyllon bei *Tenebrio molitor* L. während eines Häutungszyklus", führte ich unter Anleitung von Prof. Dr. F. Römer durch. Im Sommer 1975 begann ich, ebenfalls unter Prof. Dr. F. Römer, mit der hier vorliegenden Arbeit.

